

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

## RECHERCHES

### SUR LES COCCIDIES ET LES COCCIDIOSES DU LAPIN (1)

par CH. PÉRARD.

(*Institut Pasteur, Laboratoire de Protozoologie.*)

Après la publication du travail de Lucet (2), montrant qu'il est possible de donner une coccidiose hépatique pure à de jeunes lapins neufs, on pouvait considérer comme très probable l'existence, chez le lapin domestique, de deux espèces de coccidies : *Eimeria stiedæ* Lindemann (1865), pour le parasite du foie, et *E. perforans* Leuckart (1879), pour celui de l'intestin.

Cependant, soit que la note de Lucet ait été ignorée, soit que ses conclusions n'aient pas été acceptées, un certain nombre d'auteurs ont continué à ne reconnaître qu'une seule espèce, dénommée par raison de priorité, *E. stiedæ*.

Pour Reichenow (3), il n'est pas douteux qu'il existe deux espèces de coccidies chez le lapin, mais, d'après les caractères différentiels des oocystes qu'il donne, il semble que des causes

(1) Note préliminaire in *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 178, 16 juin 1924, p. 2631.

(2) A. LUCET, Recherches expérimentales sur la coccidiose du lapin domestique. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 1<sup>er</sup> décembre 1913.

(3) REICHENOW, Die Coccidien. *Handbuch der pathogenen Protozoen* (Pro-wazek-Nöller), 8<sup>e</sup> fasc., 1921.



d'erreurs se soient glissées dans ses recherches, faussant une partie de ses conclusions; ainsi, il n'accorde aucune valeur spécifique aux dimensions des oocystes, ni à la présence du reliquat de segmentation (ce dernier caractère a cependant, ainsi que nous le verrons plus loin, une valeur absolue). Reichenow a eu vraisemblablement affaire à certaines infections mixtes, à la fois hépatiques et intestinales, qu'il a rapportées à *Eimeria stiedæ*.

Wenyon (1), après avoir cité le travail de Reichenow, estime que « nos connaissances sur ce point ne sont pas très précises ». Dans une étude sur *E. canis*, il note que, malgré la grande différence de taille des oocystes — comparable à ce que l'on observe dans une infection mixte par les deux formes chez le lapin — il n'existe, chez le chien, qu'une seule espèce de coccidie (du genre *Eimeria*). Il juge que ce fait « soulève la question de savoir s'il y a actuellement deux coccidies chez le lapin, ou seulement une ».

Dans une récente et importante revue sur les coccidies, von Wasielewski (2) signale, à l'appui de la thèse de la dualité des espèces, qu'à Rostock dans ces dernières années, les autopsies de lapins coccidiés ont montré exclusivement des infections intestinales et jamais de maladies du foie. Mais il pense qu'il ne s'agit peut-être que de *variétés* ou de *racés* d'une seule espèce de coccidie, et il propose de considérer provisoirement les petites formes d'*Eimeria* du lapin (oocystes de  $20 \mu \times 14$  en moyenne, presque incolores et ne montrant pas de micropyle) comme des variétés d'*E. stiedæ*. Il conclut à la nécessité de nouvelles recherches par des spécialistes, sur un matériel animal suffisant. Une semblable étude, dit-il, n'est pas possible en ce moment en Allemagne, en raison de la rareté et du prix des lapins non coccidiés.

J'ai eu l'occasion, depuis plusieurs années, de faire de nombreuses expériences avec les coccidies et d'étudier plus particulièrement les coccidioses du lapin. J'ai pensé qu'en présence

(1) C. M. WENYON, Coccidiosis of cats and dogs and the status of the Isospora of man. *Annals of tropical medicine and parasitology*, 17, n° 2, 12 juillet 1923.

(2) TH. VON WASIELEWSKI, Fortschritte der Coccidienforschung. *Weichbord's Ergebnisse der Hygiene, Bakteriologie, etc.*, p. 305.



des doutes qui s'élèvent à nouveau, ou qui subsistent, au sujet de la dualité des parasites de ces affections, il y avait intérêt à faire connaître le résultat de mes recherches sur ce sujet, ainsi que des observations que j'ai pu faire en étudiant expérimentalement ces maladies.

\*  
\* \*

Dans des expériences sur les coccidioses, pour être à l'abri de toute critique, il est indispensable d'employer des animaux neufs, indemnes de coccidiose depuis leur naissance, d'utiliser des virus composés d'une seule espèce coccidienne, et de protéger les animaux contre les contaminations accidentelles pendant toute la durée de l'expérience. Dans la pratique, ces conditions sont très rarement réunies, ce qui explique les insuccès et les erreurs des expérimentateurs.

Voyons comment il est possible de les réaliser.

Le premier problème présente de grandes difficultés à résoudre, étant donné l'extrême facilité avec laquelle les lapins s'infectent naturellement de coccidiose. Quand on examine les crottes des lapins que l'on trouve dans le commerce ou provenant des élevages particuliers de la région parisienne, on constate que les rares animaux ne présentant pas d'oocystes sont adultes ou âgés. Or, ceux-ci, soient qu'ils aient été immunisés au cours de leur existence par les auto-infections répétées auxquelles ils sont naturellement soumis dès leur sevrage, soit en raison de la résistance que présentent tous les adultes aux infections parasitaires, se comportent comme des animaux vaccinés et ne font, quand on les soumet à des infections expérimentales, que des maladies légères et fugaces, ou même ne s'infectent pas.

Seuls les jeunes lapins conviennent donc pour ce genre d'expériences.

Or, à partir de l'âge de deux à trois mois, le pourcentage de jeunes lapins porteurs d'oocystes de coccidies, en plus ou moins grande abondance, est très voisin de 100 p. 100. Les parasites sont souvent très rares; ils ne déterminent alors aucun trouble et peuvent passer inaperçus à un examen microscopique rapide. Il faut parfois pour les déceler faire plusieurs



préparations et même répéter les examens microscopiques de crottes d'un même animal plusieurs jours de suite (1). Tel jeune lapin, que l'on croit indemne après plusieurs examens, montre, au bout de quelques jours, un ou plusieurs oocystes dans une préparation. Ce fait explique la cause d'erreur la plus fréquente.

On comprend, en effet, que si l'on donne à de jeunes lapins, parasités d'une façon extrêmement discrète par la coccidie intestinale, des oocystes mûrs de la coccidiose hépatique, on ne pourra pas obtenir une coccidiose hépatique pure.

Ainsi s'expliquent les divergences de résultats obtenus par les différents expérimentateurs, et notamment la production de lésions intestinales à la suite de l'ingestion de cultures pures d'*E. stiedæ* prélevées directement dans la vésicule biliaire.

On est donc amené à faire soi-même l'élevage de jeunes lapins pour avoir des animaux qui ne soient pas déjà parasités quand on entreprendra une expérience. On prendra les mesures prophylactiques les plus sévères pour éviter la contamination des jeunes par la mère dans les premières semaines de leur existence. On les séparera de la mère le plus tôt possible, c'est-à-dire vers l'âge de trois semaines, et on les isolera individuellement dans des cages à fond grillagé. On les utilisera pour les expériences le plus tôt possible, même dès l'âge de trois semaines (ils pèsent alors de 300 à 400 grammes). En opérant ainsi, on aura des chances d'avoir des animaux indemnes de coccidiose, mais il sera cependant prudent, avant de s'en servir, de pratiquer l'examen microscopique des crottes.

La protection des animaux contre les infections naturelles de coccidiose pendant la durée de l'expérience présente des difficultés de même nature. On les maintiendra isolés; on veillera à ce que la nourriture non encore distribuée ne soit pas mise en contact avec du fumier, directement ou par l'intermédiaire des brouettes, du sol, ou des chaussures souillées du

(1) Il est indiqué, pour ces recherches, d'employer un faible grossissement, par exemple de 100 diamètres, suffisant pour bien reconnaître les oocystes. J'ai renoncé à l'emploi des méthodes dites « de concentration », qui débutent par une dilution considérable des matières (30 à 100 fois) et aussi des oocystes; les procédés employés ensuite pour rassembler ceux-ci sont d'une valeur médiocre, et il m'a paru que l'on n'obtenait pas la concentration primitive. Elles présentent seulement l'avantage de débarrasser les préparations des gros débris végétaux qui gênent l'observation.



personnel. On évitera de les transporter, pour les examens au laboratoire, dans des paniers ayant contenu d'autres animaux et encore souillés, car ils pourraient emporter dans leur cage individuelle, dans les poils de la face inférieure de leur abdomen ou sous leurs pattes, des parcelles d'excréments contaminés.

La pratique montre qu'il est extrêmement difficile d'éviter les contaminations par des oocystes étrangers dans les expériences d'assez longue durée. Il n'y a pas à redouter le transport d'oocystes par les poussières d'excréments desséchés, comme on l'a cru pendant longtemps, car nous verrons ultérieurement que la dessiccation est le procédé le plus efficace pour tuer les oocystes.

Il reste à se procurer des virus ne comprenant que des parasites d'une seule espèce. Quand on considère les infections naturelles, même quand les lésions semblent limitées à un seul organe, on se trouve presque toujours en présence d'infections mixtes. Pour s'en convaincre, si les lésions ne sont pas apparentes macroscopiquement, il suffit d'examiner au microscope le contenu de la vésicule biliaire et le produit du raclage de la paroi du duodénum, ou, si l'on opère sur le vivant, une portion de crottes de l'animal parasité. Presque toujours on constatera la présence, côte à côte, des deux espèces d'oocystes qu'il s'agit de séparer.

Cette séparation est facile pour le parasite du foie, car, même en cas d'infection mixte, on peut prélever les oocystes avant leur déversement dans le tube digestif où les espèces se mélangent. Il suffit d'aspirer à la pipette le contenu de la vésicule biliaire d'un lapin jeune, présentant à l'autopsie des lésions hépatiques récentes (1). Quand les lésions sont intenses, les oocystes sont très nombreux dans la vésicule biliaire où ils forment parfois un dépôt de plusieurs millimètres d'épaisseur. Ce matériel est mis à cultiver sur milieu approprié (solution faible d'acide chromique, par exemple), et, au bout de deux à dix jours, la segmentation est complète.

Il est plus difficile d'isoler *E. perforans*, car les parasites

(1) Dans les lésions anciennes, que l'on reconnaît à ce qu'elles contiennent un caséum épais et dur, les oocystes sont aussi nombreux et ne sont pas modifiés dans leur forme, mais ils sont morts, car il est impossible d'obtenir leur segmentation.



n'existent que dans la lumière intestinale où ils sont intimement mélangés à ceux venant du foie. Même quand le foie paraît sain à l'œil nu, il est rare qu'il ne soit pas atteint de lésions très discrètes qui passeraient inaperçues si elles n'étaient décelées par la présence dans la vésicule biliaire de quelques oocystes d'*E. stiedæ*. En examinant des lapereaux de un mois à six semaines ayant succombé très rapidement (quatre à six jours à partir de l'apparition de la diarrhée) à une entérite coccidienne à marche suraiguë, on pourra espérer trouver dans la lumière du côlon et du rectum des oocystes d'*E. perforans* à l'état de pureté avant que les lésions du foie aient eu le temps de se développer. Dans ce cas, on étalera dans des boîtes de Pétri une certaine quantité d'excréments, pour faire mûrir les oocystes (1). On verra plus loin qu'il est également possible de séparer les deux espèces d'oocystes provenant d'infections mixtes en se basant sur la rapidité d'évolution différente des deux parasites dans l'organisme.

\*  
\* \*

L'ingestion (2) par de jeunes lapins neufs des deux espèces d'oocystes mûrs détermine l'évolution de deux maladies en apparence identiques, à symptômes semblables à ceux de la maladie naturelle, mais beaucoup plus tranchés. Cela tient à ce que, à part de très rares exceptions, les infections naturelles sont causées par l'ingestion répétée d'un très petit nombre d'oocystes à la fois, tandis que, dans les infections expérimentales, la quantité d'oocystes administrée est toujours très considérable; elle atteint, en général, plusieurs millions en une seule fois.

Les symptômes, bien connus, des deux formes sont caractérisés surtout par l'augmentation de volume de l'abdomen (maladie du gros ventre) et par de la diarrhée continue ou non, *remplacée parfois par de la polyurie*. Les autres symptômes: inappétence, asthénie, mise en boule avec poil

(1) Le parasite de la coccidiose intestinale qui a été employé pour ces recherches a été isolé de cette façon.

(2) Les oocystes mûrs sont administrés de la même façon dans les deux cas. Je les donne à la pipette, après dilution dans 2 à 3 cent. cubes d'eau physiologique.



hérissé (poil piqué), amaigrissement, n'ont rien de caractéristique : on les retrouve dans toutes les maladies aiguës ou subaiguës des jeunes lapins.

Le « gros ventre » est dû, dans les infections à *E. stiedæ*, à l'hypertrophie parfois considérable du foie, qui déborde largement le cercle de l'hypocondre, et est perceptible à la palpation à partir du quinzième jour. Dans les infections à *E. perforans*, c'est au contraire la masse abdominale qui devient plus volumineuse, le foie conservant ses dimensions normales.

La diarrhée est constante à une certaine période de la maladie, surtout au printemps et en été, quand les animaux en expérience ont la faculté de consommer des aliments très aqueux : fourrage vert, légumes, feuilles de choux, etc.... Elle débute vers le quatrième ou le cinquième jour dans la coccidiose intestinale ; on note d'abord du ramollissement des crottes qui cessent d'être moulées, puis, très rapidement, les émissions fécales deviennent abondantes et fluides. Cet état peut durer ainsi jusqu'à la mort.

Dans la coccidiose hépatique, elle apparaît deux ou trois jours plus tard (1) et peut présenter les mêmes caractères, mais, en général, elle est moins fluide et moins persistante.

En hiver, quand les animaux ne consomment que des aliments secs, la diarrhée peut être très fugace et passer inaperçue. On constate seulement parfois dans ce cas, à partir du cinquième au huitième jour, un ramollissement des crottes qui ne sont plus moulées et ont une consistance pâteuse. Les excréments se collent alors fréquemment aux poils des membres postérieurs et de la face antérieure de la queue où ils forment un amas susceptible de gêner la défécation comme cela s'observe dans la coccidiose des différentes espèces animales, et plus particulièrement du poussin et de l'agneau. Quand la diarrhée apparaît, elle est peu abondante, et on éprouvera parfois de grandes difficultés à se procurer des excréments. Si l'on n'est pas témoin de son émission, on la reconnaîtra aux traces qu'elle laisse autour de l'anus et sur les membres postérieurs. Cette ébauche de diarrhée peut durer deux ou trois jours, rarement plus, puis les crottes

(1) Coïncidant ainsi à peu près dans les deux cas avec le début de la période d'émission des oocystes, ainsi qu'on le verra plus loin.



redeviennent normales, dures et bien moulées, et peuvent rester ainsi jusqu'à la mort de l'animal.

Au cours de l'évolution de la maladie, quand la diarrhée cesse, il s'établit une compensation avec l'excrétion urinaire (1). On constate alors une polyurie intense. L'urine souille la face postérieure des cuisses, inonde la litière, les fourrages tombés du râtelier et les crottes récemment émises. La partie inférieure des membres qui écrasent les crottes ramollies et l'extrémité inférieure de la tête qui cherche la nourriture sur le sol sont constamment mouillées et souillées par des particules excrémentitielles. Ainsi, malgré l'absence de diarrhée, les oocystes émis sont placés dans des conditions tout aussi favorables pour leur évolution rapide, comme nous le verrons ultérieurement.

De toute façon, que ce soit par diarrhée continue ou par polyurie, le malade se déshydrate rapidement et se cachectise.

La mort, chez ces jeunes lapins infectés, est la terminaison habituelle. L'évolution de la maladie expérimentale est plus rapide que celle de la maladie naturelle, même quand cette dernière se termine par la mort. Quand l'infection est massive, la mort survient au bout de six à quinze jours (neuf jours en moyenne) pour la coccidiose intestinale, et de vingt et un à trente jours pour la coccidiose hépatique.

\* \*

Les différents stades de l'évolution du parasite dans l'organisme sont bien connus, et je n'ai pas l'intention de revenir sur ce point. Mais, si l'on pratique chaque jour, pendant toute la durée des deux maladies, des examens microscopiques des excréments, il est possible de faire quelques remarques intéressantes.

Il n'y a rien à noter du premier au troisième jour. Du troisième au sixième jour, on peut constater parfois l'émission de mérozoïtes (qui sont, on le sait, le terme de la reproduction asexuée, assurant l'auto-infection). On ne les aperçoit que dans les infections très intenses, et leur nombre va en décroissant

(1) Ce phénomène n'est pas spécial au lapin. Il est constant dans la coccidiose du rat et de la souris.



du troisième au sixième jour. En sacrifiant les animaux à cette période, on peut avoir, notamment dans la coccidiose intestinale, de larges zones de schizogonie pure. Celle-ci se continue évidemment les jours suivants, mais le nombre de mérozoïtes libres mélangés aux excréments est alors trop peu important pour qu'on puisse les reconnaître aisément.

C'est à cette période que les excréments commencent à se ramollir et à devenir pâteux, et elle n'est pas encore terminée que la diarrhée s'établit parfois, en même temps que l'on voit apparaître les premiers oocystes.

Ceux-ci sont toujours, au début, de taille irrégulière et plus petits que la moyenne de ceux de l'espèce à laquelle ils appartiennent.

Dans la coccidiose intestinale, les premiers oocystes apparaissent à partir du quatrième ou du cinquième jour. Dans la coccidiose hépatique, au contraire, les premiers oocystes ne sont visibles qu'à partir du sixième et souvent du septième jour (1).

Cette différence de rapidité de l'évolution dans l'organisme est intéressante, parce qu'elle donne un moyen de séparer les deux espèces d'oocystes intimement mélangées dans les infections mixtes, et d'isoler *E. perforans* que l'on a généralement beaucoup de peine à se procurer à l'état pur. Il suffit de faire ingérer à un jeune lapin neuf une portion de culture riche en oocystes des deux espèces mélangées, et de surveiller l'apparition, dans les crottes de ce lapin, des oocystes de nouvelle formation. On recueillera les premières crottes parasitées pour avoir des oocystes d'*E. perforans*. Les oocystes d'*E. stiedæ* auront en général un retard de vingt-quatre à quarante-huit heures; ils seront alors mélangés à ceux de l'autre espèce, mais pour eux, cela n'a pas d'importance, puisque l'on peut se procurer un matériel certainement pur en prélevant le contenu de la vésicule biliaire. Si l'on n'était pas très certain d'avoir prélevé les premiers oocystes apparus, il serait indiqué de faire un ou deux passages dans les mêmes conditions avec le nouveau matériel préalablement segmenté.

A partir du moment où les oocystes sont apparus dans les excréments, leur nombre augmente assez rapidement, mais

(1) Dans une expérience, les premiers oocystes d'*E. stiedæ* ne sont apparus que le onzième jour.



d'une façon souvent irrégulière, et l'on peut constater des périodes d'accalmie. Après avoir été très nombreux pendant quelques jours, les oocystes peuvent devenir brusquement rares, et inversement. Il n'y a pas de règle à ce sujet. Ces différences peuvent s'expliquer par la formation de nouvelles générations qui se trouvent sensiblement toutes au même stade, et seront expulsées à peu près en même temps; de là les véritables décharges d'oocystes que l'on observe parfois, succédant à une période de plusieurs jours pendant laquelle on pouvait croire l'infection terminée. En général, cependant, dans les jours qui précèdent la mort, le nombre d'oocystes est toujours considérable; il n'est pas rare d'en compter plus de 100 dans un seul champ au grossissement de 100 diamètres.

L'état diarrhéique des excréments n'est pas en rapport avec le nombre d'oocystes émis. On note parfois de la diarrhée au début alors que les oocystes sont rares [ou peu nombreux. Par contre, dans une expérience récente effectuée en hiver avec *E. stiedæ*, les crottes sont restées dures et bien moulées pendant toute la durée de la maladie, même quand elles contenaient, la veille de la mort, plus de 200 oocystes par champ de 1.500  $\mu$  de diamètre.

\*  
\*  
\*

A l'autopsie des animaux ayant succombé aux deux sortes d'infections, ou sacrifiés *in extremis*, les lésions sont excessivement nettes.

Les lapins infectés avec *E. perforans* ne présentent que des lésions intestinales, en général étendues à tout l'intestin grêle qui est bosselé et blanchâtre, tous les replis et les culs-de-sac glandulaires étant bourrés de gamétocytes (fig. I). L'appendice peut être aussi envahi. Quand on sacrifie des animaux à différents stades de l'infection, on constate que les lésions débutent par le duodénum et gagnent de proche en proche les autres portions de l'intestin grêle. Dans les infections avec un grand nombre d'oocystes, cet envahissement peut être très rapide et réalisé dès le huitième jour, le nombre de mérozoïtes formés pendant la période active de la schizogonie permettant de parasiter la majeure partie des cellules sur toute la longueur de l'intestin grêle.



Toute la masse intestinale a augmenté de volume produisant à elle seule le symptôme du « gros ventre », car le foie conserve ses dimensions normales, et l'ascite est inconstante ou peu abondante. Le foie est intact, le cholédoque n'est pas dilaté, et il est facile de constater, en examinant au microscope le contenu de la vésicule biliaire, que les canaux biliaires n'ont

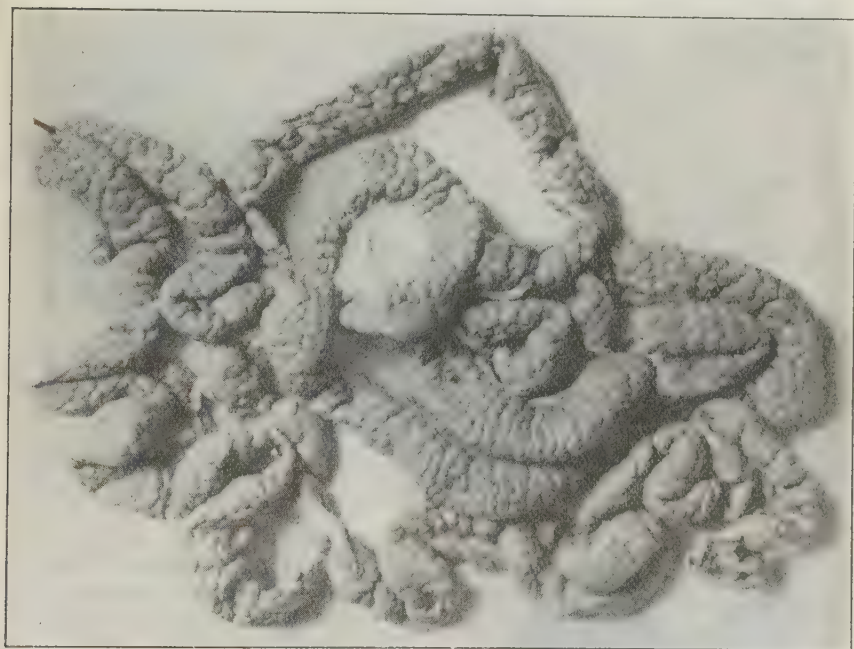


FIG. I. — Intestin grêle de lapin infecté avec *Eimeria perforans*.  
(Grandeur naturelle. Photo Jeantet)

pas été envahis par la coccidiose. Il s'agit donc bien d'une coccidiose purement intestinale.

Dans les infections avec *E. stiedæ*, au contraire, le foie est seul atteint, et c'est lui qui, par une hypertrophie souvent considérable, provoque le symptôme du « gros ventre ». Il peut occuper plus de la moitié de la cavité abdominale, refoulant la masse intestinale. Dans une de mes expériences, portant sur un lapin de 800 grammes (au moment de l'infection), le foie mesurait au moment de la mort, survenue le vingt-septième jour,



20 centimètres de largeur et pesait 400 grammes (1). Le lapin pesait à ce moment 1 kilogr. 250; le poids du foie représentait

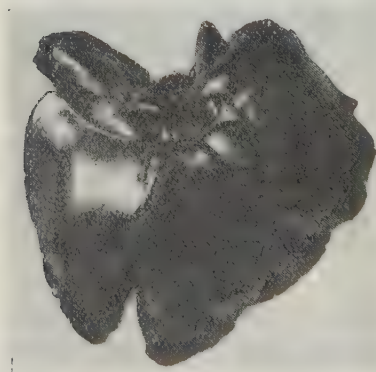


FIG. II. — En haut, foie de lapin infecté avec *Eimeria stiedae* (réduit de moitié en diamètre). — A gauche, foie d'un lapin normal de même âge (réduction 1/2). [Photo Jeantet.]

donc le tiers du poids total, et c'est sur cet organe qu'avait presque uniquement porté l'augmentation de poids de 450 grammes pendant cette période. L'hypertrophie du cholédoque, des canaux et de la vésicule biliaires, bourrés

d'oocystes, est en proportion. Dans le cas particulier, la vésicule biliaire mesurait 5 centimètres de long sur 1 de large; le

(1) Le foie d'un lapin de même âge pèse 30 à 50 grammes.



cholédoque et les gros canaux biliaires du hile du foie avaient environ 1 centimètre de diamètre.

Dans une expérience récente, l'hypertrophie du foie était encore plus considérable (fig. II). Cet organe avait les dimensions d'un foie de mouton; étalé, il mesurait 30 centimètres de diamètre et pesait 580 grammes. Cette hypertrophie avait été réalisée en vingt-neuf jours (du 24 janvier au 22 février 1924). Dans les infections pures, l'intestin grêle est indemne. Il n'y a pas de lésions sous forme de taches blanches visibles à l'œil nu; dans la lumière intestinale, on ne trouve que les oocystes expulsés par le foie, et l'examen microscopique du produit de raclage des parois du duodénum est négatif.

J'ai résumé, dans le tableau ci-dessous, quelques expériences typiques.

L'existence de deux maladies distinctes : la coccidiose hépatique et la coccidiose intestinale, n'est donc pas douteuse, et cela démontre qu'il existe bien deux parasites distincts, puisque *E. stiedæ*, donné en ingestion, produit toujours la coccidiose hépatique, et ne produit qu'elle, tandis qu'*E. perforans*, administré par la même voie, détermine exclusivement la coccidiose intestinale.

#### CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES DES OOCYSTES.

Est-il possible de reconnaître morphologiquement ces deux parasites?

Je n'envisagerai ici que la détermination des parasites au stade oocyste. C'est sous cette forme que l'on est appelé à les observer dans la pratique quand on les recherche dans les excréments du lapin.

Railliet et Lucet (1), dès 1891, avaient donné des caractères différentiels des deux espèces qui ont conservé toute leur valeur.

Si l'on examine seulement deux oocystes d'espèces différentes, il est possible que l'on tombe sur des individus à peu près semblables comme forme et dimensions. Pour dégager les caractères morphologiques différentiels des deux espèces, il est nécessaire de comparer un grand nombre de parasites des

(1) A. RAILLIET et LUCET. *Bull. Soc. zool. de France*, 16, 1891.



## Infections pures.

AGE OU POIDS DU LATIN	ESPECE d'oocyste ingéré	DUREE de la maladie	LÉSIONS		OBSERVATIONS
			Intestin	Foie	
Trente-cinq jours . . . .	<i>E. perforans.</i>	Neuf jours.	+	0	Tout l'intestin grêle est envahi.
Un mois . . . . .	<i>E. perforans.</i>	Sacrifié mourant le huitième jour.	+	0	Tout l'intestin grêle est envahi.
Deux mois . . . . .	<i>E. perforans.</i>	Dix jours.	+	0	Lésions confluentes sur toute la longueur de l'intestin grêle.
Un mois et demi. . . . .	<i>E. perforans.</i>	Sacrifié mourant le seizième jour.	+	0	Lésions confluentes sur toute la longueur de l'intestin grêle.
800 grammes. . . . .	<i>E. stiedæ.</i>	Vingt-huit jours.	0	+	Le foie pèse 400 grammes.
700 grammes. . . . .	<i>E. stiedæ.</i>	Vingt-six jours.	0	+	Le foie pèse 242 grammes.
Un mois . . . . .	<i>E. stiedæ.</i>	Sacrifié le vingt-sixième jour.	0	+	Le foie pèse 475 grammes.
4 kilogr. 420 (frère du précédent).	<i>E. stiedæ.</i>	Vingt-neuf jours.	0	+	Le foie pèse 580 grammes.



deux formes, de même que l'on n'apprécie bien tous les caractères d'une race de moutons que par l'examen de tout un troupeau composé d'animaux de même race.

Nous examinerons successivement les oocystes : 1° tels qu'ils se présentent dans les selles aussitôt après leur émission; 2° après segmentation dans les milieux appropriés.

La forme ovoïde des deux espèces d'oocystes est sensiblement la même (fig. III et V, n°s 1, 2 et 6). Cependant, pour *E. perforans*, il existe une assez grande proportion d'individus présentant des pôles identiques, sans que l'on puisse distinguer lequel est le petit ou le gros bout.

La proportion des individus asymétriques dans le sens du plus grand diamètre est aussi à peu près égale dans les deux cas, si l'on considère plusieurs infections. L'asymétrie est cependant plus apparente pour l'oocyste d'*E. stiedæ*, mais ce sont là des caractères relatifs d'une appréciation difficile en l'absence de termes de comparaison.

Beaucoup plus nets sont les renseignements fournis par la mensuration; mais, pour les interpréter, il faut savoir que, dans les infections naturelles qui se terminent assez souvent par la guérison, quand elles sont légères ou qu'elles portent sur des sujets déjà résistants, les oocystes du début et de la fin de la maladie sont de tailles très inégales, et toujours plus petits. Il en est de même chez les animaux adultes, porteurs de germes, chez lesquels il persiste une forme de résistance de petite taille qui entretient la maladie dans les élevages; la segmentation en culture et les infections expérimentales prouvent sa virulence.

J'ai observé, chez des lapins adultes, des formes presque sphériques présentant, pour quelques-unes, les dimensions suivantes :  $10 \mu \times 8$ ,  $12 \times 8$ ,  $12 \times 10$ ,  $10 \times 10$ ,  $12 \times 12$ ,  $16 \times 16$ ; que j'ai pu employer comme souches d'*E. perforans*, et qui se sont transformées, dans les infections expérimentales, en oocystes de dimensions normales.

Les dimensions que je donne dans le tableau ci-dessous se rapportent à des oocystes des deux espèces, pris au hasard (tous ceux d'un même champ, par exemple), mais en pleine évolution de la maladie, quand ils sont déjà très nombreux et dans des infections diverses. *Il y a en général une assez grande homogénéité dans chaque infection*; mais, avec la même souche de



<i>E. perforans</i>			<i>E. stiedæ</i>		
Dimensions en $\mu$	Couleur	Micropyle	Dimensions en $\mu$	Couleur	Micropyle
25 $\times$ 16	Incolore.	Fermé.	40 $\times$ 22	Coloré.	Ouvert.
24 $\times$ 15	"	"	43 $\times$ 26	"	"
29 $\times$ 16	Lég <sup>l</sup> . teinté.	Ouvert.	40 $\times$ 22	"	"
27 $\times$ 20	Coloré.	"	38 $\times$ 22	"	"
32 $\times$ 18	Incolore.	Fermé.	39 $\times$ 20	"	"
33 $\times$ 20	Coloré.	Ouvert.	38 $\times$ 18	A peine teinté.	Fermé.
24 $\times$ 15	Incolore.	Fermé.	40 $\times$ 22	Coloré.	Ouvert.
26 $\times$ 15	"	"	40 $\times$ 21	"	"
28 $\times$ 16	"	"	40 $\times$ 22	"	"
25 $\times$ 15	"	"	40 $\times$ 22	"	"
25 $\times$ 14	"	"	38 $\times$ 25	"	"
25 $\times$ 13	"	"	40 $\times$ 20	"	"
25 $\times$ 15	"	"	40 $\times$ 25	"	"
25 $\times$ 15	"	"	40 $\times$ 28	"	"
23 $\times$ 15	"	"	38 $\times$ 26	"	"
25 $\times$ 13	"	"	40 $\times$ 28	"	"
28 $\times$ 15	"	"	38 $\times$ 25	"	"
25 $\times$ 15	"	"	38 $\times$ 25	"	"
25 $\times$ 15	"	"	35 $\times$ 22	Presque incolore.	Fermé.
25 $\times$ 13	"	"	38 $\times$ 30	Coloré.	Ouvert.
24 $\times$ 15	"	"	35 $\times$ 20	Presque incolore.	Fermé.
27 $\times$ 14	"	"	38 $\times$ 28	Coloré.	Ouvert.
26 $\times$ 16	"	"	38 $\times$ 20	"	"
25 $\times$ 15	"	"	35 $\times$ 19	"	"
28 $\times$ 15	"	"	35 $\times$ 20	"	"
25 $\times$ 15	"	"	39 $\times$ 18	"	"
30 $\times$ 15	"	"	39 $\times$ 20	"	"
28 $\times$ 15	"	"	37 $\times$ 21	"	"
20 $\times$ 13	"	"	34 $\times$ 18	"	"
33 $\times$ 20	Coloré.	Ouvert.	35 $\times$ 20	"	"
28 $\times$ 15	Incolore.	Fermé.	35 $\times$ 20	"	"
25 $\times$ 15	"	"	35 $\times$ 20	"	"
20 $\times$ 13	"	"	40 $\times$ 20	"	"
24 $\times$ 15	"	"	35 $\times$ 21	"	"
25 $\times$ 15	"	"	37 $\times$ 20	"	"
28 $\times$ 16	"	"	36 $\times$ 20	"	"
25 $\times$ 15	"	"	37 $\times$ 20	"	"
22 $\times$ 12	"	"	40 $\times$ 21	"	"
26 $\times$ 15	"	"	37 $\times$ 21	"	"
25 $\times$ 13	"	"	36 $\times$ 20	"	"
29 $\times$ 18	"	"	40 $\times$ 21	"	"
26 $\times$ 15	"	"	33 $\times$ 20	"	"
28 $\times$ 15	"	"	37 $\times$ 20	"	"
26 $\times$ 15	"	"	35 $\times$ 19	Incolore.	Fermé.
24 $\times$ 15	"	"	38 $\times$ 21	Coloré.	Ouvert.
28 $\times$ 20	"	"	35 $\times$ 20	"	"
26 $\times$ 16	"	"	35 $\times$ 20	"	"
26 $\times$ 17	"	"	37 $\times$ 18	Incolore.	Fermé.
28 $\times$ 18	"	"	34 $\times$ 19	Coloré.	Ouvert.
28 $\times$ 17	"	"	36 $\times$ 20	"	Ouvert.

virus, on peut observer de légères variations de taille d'un lapin à un autre.

Les différences de dimensions d'une espèce à l'autre sont



nettes. La moyenne pour *E. perforans* est de  $25 \mu 5 \times 15,5$  et pour *E. stiedæ* de  $37 \mu 5 \times 21,5$ . La majorité des oocystes d'*E. perforans* mesurent entre 24 et 30  $\mu$  de long et plus de 90 p. 100 des oocystes d'*E. stiedæ* sont compris entre 35 et 40  $\mu$ . Il ne peut donc y avoir de confusion que pour les individus de 31 à 34  $\mu$  (inclusivement) de longueur qui se trouvent dans la zone où les courbes de fréquence se rencontrent.

La paroi des oocystes d'*E. stiedæ* semble être un peu plus mince que celle d'*E. perforans* (environ  $3/4$  de  $\mu$  au lieu de 1  $\mu$ ), ce qui la rend beaucoup plus fragile étant donné le volume plus grand de l'oocyste.

Un autre caractère est fourni par le micropyle qui est très apparent (jusqu'à mesurer de 6 à 10  $\mu$  de diamètre) chez la plupart des oocystes d'*E. stiedæ* trouvés dans les excréments (n° 6, fig. V), tandis qu'il est fréquemment invisible pour les oocystes d'*E. perforans* [n°s 1 et 2, fig. III (1)].

La couleur des oocystes sur laquelle Railliet et Lucet, puis Lucet, ont appelé l'attention, peut fournir aussi des indications utiles; mais elle n'a pas de valeur absolue, car des oocystes des deux espèces peuvent être teints. Un grand nombre d'oocystes d'*E. stiedæ* (environ 90 p. 100) pris dans les excréments (ceux des canaux biliaires étant souvent incolores) sont colorés en jaune-orangé plus ou moins clair, tandis que la proportion des oocystes colorés dans les infections intestinales pures ne dépasse pas 10 p. 100, cette moyenne étant établie sur plusieurs infections. Les oocystes colorés d'*E. perforans* sont en général de taille plus grande que la moyenne et leur micropyle est toujours apparent et plus ouvert, comme dans *E. stiedæ*, de sorte que leur confusion avec cette dernière espèce s'explique. Mais nous verrons plus loin qu'un autre caractère différentiel, basé sur des détails d'organisation après segmentation, permet de les distinguer et de rapporter ces formes douteuses à *E. perforans*. Si l'on considère que seuls les oocystes des deux espèces ayant le micropyle ouvert sont teints, on peut penser que la coloration est en rapport avec l'ouverture du micropyle et que ce caractère a exactement la même

(1) Il peut cependant y avoir des différences marquées suivant les infections. Dans une expérience récente avec *E. perforans*, presque tous les oocystes avaient le micropyle largement ouvert (v. fig. IV, n° 5).



valeur spécifique que celle fournie par le micropyle. Le tableau ci-dessus<sup>2</sup> montre la corrélation qui existe entre la couleur des oocystes et l'ouverture de leur micropyle.

La segmentation des oocystes des deux espèces, placés dans les mêmes conditions, semble se faire avec une égale rapidité. contrairement à ce qu'affirment les auteurs allemands récents. En boîte de Petri, dans l'acide chromique faible et à la température du laboratoire (16-18°), elle est complète en deux jours pour quelques oocystes, mais le plus grand nombre ne sont



FIG. III. — *Eimeria perforans*. 1, 2, oocystes non segmentés; 3, oocyste segmenté. (G. : 1.700 D.)

mûrs qu'au bout de huit à dix jours. Puisqu'il s'agit de parasites du genre *Eimeria*, on a dans les deux cas la formation de 4 sporocystes contenant chacun deux sporozoïtes. Mais les détails de la segmentation permettent de noter des différences appréciables qu'il est possible d'apercevoir dès l'individualisation des sporoblastes, c'est-à-dire parfois au bout de vingt-quatre heures de culture.

Quand la segmentation est terminée, on aperçoit pour *E. perforans*, à l'intérieur de l'oocyste, les 4 sporocystes ovoïdes (de 8 à 15  $\mu \times$  5 à 8) à paroi très mince contenant chacun deux sporozoïtes et à côté des sporocystes un cinquième corps sphérique formé de gros grains sans paroi propre et mesurant 4 à 8  $\mu$  de diamètre au moment où la segmentation s'achève (fig. III et IV, nos 3, 4, 5). Cette masse granuleuse a été consi-



dérée à tort, à mon avis, comme un amas résiduel et appelée « reliquat de segmentation ». Elle se comporte plutôt comme un amas de matières de réserve et une partie des grains qui la forment sont vraisemblablement constitués par des substances nutritives qui se dissolvent peu à peu pour entretenir la vitalité des sporozoïtes dans le kyste, car dans des cultures âgées de plusieurs mois son volume a diminué de plus de moitié. Qu'elle comprenne en même temps des matières résiduelles, cela est aussi probable, car elle ne disparaît jamais complètement.

Chez *E. stiedæ*, au contraire, on n'observe jamais de reli-

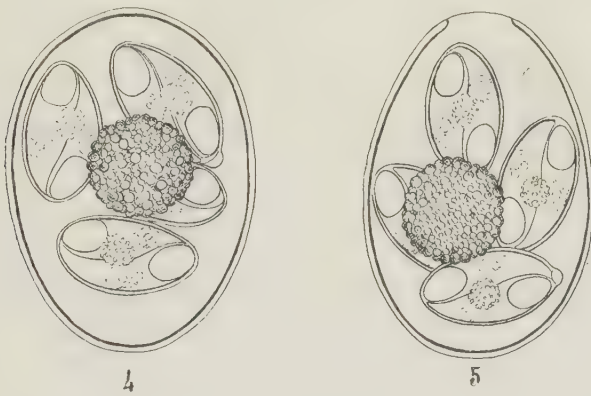


FIG. IV. — *Eimeria perforans*. 4, 5, grandes formes segmentées.  
(G. : 1.700 D.)

quat de segmentation sous forme de corps granuleux sphérique libre au milieu des quatre sporocystes (1); mais, si l'on examine le contenu des sporocystes (plus allongés que dans le cas précédent et mesurant en moyenne  $18 \mu \times 10$ ), on s'aperçoit qu'au lieu d'être entièrement remplis par les 2 sporocystes, il existe à côté ou entre ceux-ci un amas granuleux un peu plus long que large, délimité à la fin de la segmentation (quand les sporozoïtes sont bien individualisés) et mesurant en moyenne  $8 \mu \times 6$  (fig. V, n° 7). C'est ce que certains auteurs ont appelé le « reliquat de différenciation » pour le distinguer du « reliquat

(1) Il existe parfois, mais assez rarement, un très petit amas résiduel de deux à trois  $\mu$ , résultant de la réunion de deux ou trois petits corps très brillants, ressemblant à des cristaux irréguliers que l'on ne peut confondre avec un vrai reliquat de segmentation.



de segmentation ». Cette distinction, à mon avis, n'est pas heureuse, car cet amas inclus dans chaque sporocyste d'*E. stiedæ* est, sans aucun doute, l'équivalent du reliquat de segmentation unique et libre d'*E. perforans*. Il y a dans les deux cas une « compensation » des reliquats ou plus exactement des matières de réserve.

Cette répartition différente du contenu de l'oocyste doit tenir



FIG. V. — *Eimeria stiedæ*. 6, oocyste non segmenté; 7, oocyste segmenté. (G. : 1.700 D.)

à la formation plus rapide au cours de la segmentation de la paroi des sporocystes. Chez *E. stiedæ*, cette paroi est aussi relativement un peu plus épaisse que celle des sporocystes d'*E. perforans*, ce qui compense la fragilité de la paroi de l'oocyste. On trouve, en effet, dans les cultures ou dans les préparations, de nombreux sporocystes d'*E. stiedæ* libres, sortis à travers le micropyle dilaté (on en voit parfois d'engagés) ou à la suite de l'éclatement de l'oocyste. Leur paroi épaisse et les matières de réserve qu'ils contiennent leur permettent de résister aux agents destructeurs.

Chez *E. perforans*, l'organe de protection essentiel est au



contraire la paroi de l'oocyste, relativement beaucoup plus épaisse en raison des dimensions moindres du kyste.

Quoi qu'il en soit, la présence ou l'absence d'un « reliquat de segmentation », libre dans l'oocyste, est un caractère différentiel des deux espèces, qui a une valeur absolue.

SPÉCIFICITÉ POUR LE LAPIN D'*E. stiedæ* ET D'*E. perforans*.

Afin de savoir si *E. stiedæ* et *E. perforans* sont des coccidies propres au lapin ou bien si ces espèces peuvent se développer chez d'autres animaux, j'ai fait plusieurs essais d'infection expérimentale du rat blanc, de la souris blanche, du chien, de l'agneau et du chevreau. Ces espèces peuvent être parasitées par des coccidies propres du genre *Eimeria*, dont certaines comme *E. miyarii* (du rat), *E. falciformis* (de la souris), *E. arloingi* (de la chèvre), *E. faurei* (du mouton), se rapprochent d'*E. stiedæ* par leur absence de reliquat de segmentation libre, tandis qu'*E. canis* ressemble morphologiquement après segmentation à *E. perforans*.

J'ai aussi expérimenté sur le cobaye chez lequel je n'ai jamais rencontré, à Paris, de coccidiose naturelle.

Dans le but d'éviter les causes d'erreurs dues aux infections antérieures ou en cours et d'augmenter les chances d'infection expérimentale, j'ai employé pour ces expériences des animaux très jeunes, indemnes de coccidiose propre.

Les souris étaient âgées de dix à quinze jours; les rats de quinze à vingt-cinq jours; les deux chevreaux de quinze jours; l'agneau de six mois; les chiens de moins de trois mois.

Chaque espèce a reçu en ingestion (à la pipette ou sur du pain pour les petits animaux, au biberon pour les plus grands), de grandes quantités d'oocystes mûrs d'*E. stiedæ* et d'*E. perforans* provenant de cultures âgées de quatre jours à un mois, dont la vitalité au moment de l'ingestion était contrôlée sur des lapins témoins.

Dans tous les cas, le résultat de ces expériences a été négatif; dans les quinze jours qui ont suivi l'ingestion, il n'a pas été trouvé, dans les excréments examinés chaque jour, de parasite pouvant se rapporter aux coccidies.

Deux animaux, un rat et une souris, infectés le même jour



avec *E. perforans*, ont bien présenté dans leurs crottes à partir du vingt-sixième et du vingt-huitième jour après l'ingestion, des oocystes d'abord rares, puis nombreux, mais il a été possible, après culture, de les identifier, ceux du rat à *E. Miyarii*, ceux de la souris à *E. falciformis* qui se distinguent très nettement d'*E. perforans* mûr par l'absence de reliquat sphérique de segmentation, libre dans l'oocyste. Il s'agissait donc manifestement d'infection accidentelle par la coccidie propre de chaque espèce, infection favorisée par la longue durée de l'expérience.

Il ne m'a pas été possible d'opérer sur le veau pour rechercher si *E. stiedæ* est l'agent de la coccidiose des bovidés comme l'admettent quelques auteurs. Je dois dire cependant que pas plus les raisons théoriques que les expériences d'infections de bovidés de Van Nederveen (1), en faveur de l'identité d'*E. Zürni* (des bovidés) et d'*E. stiedæ*, ne me paraissent convaincantes.

Inversement, je n'ai pas réussi à infecter de jeunes lapins neufs en leur faisant ingérer des oocystes mûrs de coccidies du rat et de la souris. Comme dans la série précédente, une infection accidentelle, pendant le cours de l'expérience, aurait pu fausser les résultats si je n'avais pris soin d'identifier les parasites, ce que ne semblent pas avoir fait les auteurs, comme Rudovsky, dans leurs recherches sur le même sujet. Un jeune lapin, qui avait reçu les oocystes de la coccidie du rat, a présenté dans ses crottes, à partir du vingt-cinquième jour seulement, des oocystes d'abord rares, puis de plus en plus nombreux, de dimensions sensiblement égales à celles des oocystes d'*E. miyarii* (16 à 24  $\mu$  sur 12 à 14). Mis à mûrir, ces oocystes ont tous montré un gros reliquat de segmentation libre. Il s'agissait donc, là encore, d'une contamination par l'une des coccidies propres au lapin.

En résumé, si l'on met à part les bovidés pour lesquels la question n'est pas tranchée, il semble que l'on peut dire qu'*E. stiedæ* et *E. perforans* sont bien des coccidies propres au lapin.

(1) VAN NEDERVEEN, *Tijdschr. v. Vergelijk' Genesl'k. enz.*, 7, fl. 4 et 8, f. 2 et 3; *V. Bull. Inst. Pasteur*, 21, p. 444 et 686.



Mes résultats s'opposent à ceux de Rudovsky (1). Cet auteur prétend avoir trouvé chez le rat une coccidie qu'il rapporte à *E. stiedæ*, comprenant sous ce nom à la fois *E. stiedæ* et *E. perforans*. Il aurait en outre infecté un jeune lapin avec des crottes de rat renfermant *E. stiedæ* (?) et obtenu des passages de la même coccidie du lapin au rat. Ces expériences ne semblent pas avoir été faites avec une rigueur suffisante. Il est probable que les résultats obtenus ont été faussés par une des nombreuses causes d'erreurs que j'ai signalées au cours de cet exposé : animaux d'expériences porteurs de germes d'espèces différentes de celles administrées, espèces parasitaires mal déterminées, contaminations non reconnues, etc.

#### CONCLUSIONS.

1° En résumé, l'étude des coccidioses du lapin permet de constater qu'il existe bien, chez cet animal, comme l'avaient signalé Railliet et Lucet, et contrairement à l'opinion de Metzner qui avait prévalu, deux espèces de coccidies : *E. stiedæ* Lindemann et *E. perforans* Leuckart, correspondant aux deux espèces créées par Leuckart en 1879 sous les noms de *Coccidium oviforme* et de *Coccidium perforans*, subdivision de l'espèce unique appelée *Psorospermium cuniculi* par Rivolta en 1878.

2° Ces deux espèces sont fréquemment associées dans les infections naturelles ; elles produisent alors deux maladies différentes superposées.

3° Il est possible de séparer les deux parasites et d'obtenir des cultures pures de chaque espèce.

4° L'ingestion d'une portion de culture pure d'ocystes segmentés d'*E. stiedæ* par de jeunes lapins neufs détermine chez ces animaux, comme l'a bien vu Lucet, l'évolution de la coccidiose hépatique pure, produisant une hypertrophie énorme du foie qui peut peser plus du tiers du poids total du malade. La maladie se termine le plus souvent par la mort en trois semaines à un mois en moyenne.

5° Les ocystes segmentés d'*E. perforans*, administrés dans

(1) RUDOVSKY. *Centralbl. f. Bakter., I, Origin.*, 87, 30 décembre 1921.



les mêmes conditions à d'autres lapins neufs, produisent uniquement la coccidiose intestinale, maladie à marche suraiguë qui se termine par la mort en six à quinze jours dans les infections expérimentales intenses. C'est de beaucoup la forme la plus meurtrière pour les très jeunes lapins dans les conditions naturelles en raison de son évolution rapide et de l'intensité des lésions qui peuvent se développer sur toute la longueur de l'intestin grêle.

6° Les principaux symptômes : « gros ventre » et diarrhée sont les mêmes dans les deux maladies. Le gros ventre est dû uniquement à l'hypertrophie du foie dans la coccidiose hépatique et à l'hypertrophie de l'intestin dans la coccidiose intestinale. La diarrhée peut être remplacée par de la polyurie.

7° Les oocystes des deux espèces possèdent des caractères différents qui permettent de les identifier dans les infections mixtes ou pures, et que l'on peut résumer de la façon suivante :

*E. perforans* : oocyste de forme ovoïde, à bouts souvent identiques mesurant en moyenne  $25 \mu$  5 de longueur et  $15 \mu$  5 de largeur ; micropyle souvent fermé, rarement teinté, possédant après segmentation un « reliquat de segmentation » sphérique libre au milieu des quatre sporocystes qui peuvent également contenir un petit reliquat finement granuleux de 1 à  $3 \mu$  de diamètre.

*E. stiedæ* : oocyste de forme ovoïde plus allongée, à bouts souvent légèrement inégaux ; mesurant en moyenne  $37 \mu$  5 de longueur et  $21 \mu$  5 de largeur ; micropyle presque toujours ouvert (dans les excréments) ; souvent coloré en jaune-orange ; ne possédant pas, après segmentation, de reliquat de segmentation libre et unique, mais un reliquat de même nature, dans chacun des quatre sporocystes.

8° *E. stiedæ* et *E. perforans* sont des coccidies propres au lapin.



# ÉTUDE CLINIQUE ET EXPÉRIMENTALE D'UN CAS D'HERPÈS RÉCIDIVANT DU DOIGT

par S. NICOLAU et P. POINCLoux.

(Travail du laboratoire de M. Levaditi, Institut Pasteur).

En juillet 1922, dans une note à la Société de Biologie (1), et en juin 1923, dans la thèse de l'un de nous (2), nous avons fait connaître les particularités principales d'un cas d'herpès récidivant parce que sa localisation rare, son évolution rythmique et son contrôle expérimental nous paraissaient instructifs. Nous avons poursuivi l'étude de ce cas et ce sont les résultats des observations enregistrées depuis cinq ans que nous exposerons dans ce mémoire.

## I. — Histoire clinique.

M<sup>lle</sup> M. C ..., trente-deux ans, sans antécédents pathologiques.

1<sup>o</sup> PREMIÈRE ATTEINTE. — En octobre 1918, la malade apprend le métier de coiffeuse. Le maniement du fer à onduler provoque une irritation chronique du bord externe de la deuxième phalange de l'index droit, sur son versant palmaire, qui devient douloureuse à la pression; la peau y subit un épaississement notable, véritable callosité professionnelle. *Au bout de sept mois, en mai 1919*, subitement, la phalangine de l'index droit devient rouge, chaude, douloureuse; augmentation de volume du doigt entier, avec prédominance phalanginienne. *Pas de douleurs dans le membre supérieur*. Balnéation chaude pendant cinq jours, au bout desquels un médecin, consulté, porte le diagnostic de panaris et donne un coup de bistouri de 2 centimètres de longueur, un peu en dehors de la ligne médiane de la face palmaire de la phalangine. Guérison complète en une dizaine de jours.

2<sup>o</sup> DEUXIÈME ÉVOLUTION. — Au milieu de mars 1920, la malade consulte l'un de nous, en raison de « douleurs dans le bras droit ».

La région deltoïdienne droite, puis la face postérieure et externe du bras,

(1) NICOLAU et POINCLoux. *C. R. Soc. Biol.*, 87, 1922, p. 431.

(2) POINCLoux. *L'herpès, ses rapports avec l'encéphalite léthargique*, 1923. Arnette, éditeur.



puis la masse des muscles épicondyliens étaient ou devinrent en effet sensibles à la pression. Les muscles deltoïde, triceps, extenseurs des doigts étaient de consistance dure, comme contracturés. Les souffrances spontanées, plus vives que celles provoquées par l'examen, troublaient le sommeil de la malade. Ces symptômes persistèrent pendant une quinzaine de jours, diminuant à la racine du membre, augmentant par contre dans l'avant-bras.

Durant cette période, malaise général, fatigue, inappétence, travail impossible. Température normale.

Pendant la première dizaine d'avril, diminution des souffrances. Puis réactivation brusque des douleurs; mais cette fois, l'index participe aux troubles; un vendredi, la phalangine devient rouge, chaude tuméfiée et douloureuse. Le dimanche, l'état du sujet est le suivant :

« L'index en entier est gonflé. La face palmaire des trois phalanges est tendue, avec maximum phalangeinien; chaque segment est isolé du voisin par une bride au niveau des plis articulaires. Le doigt est en demi-flexion. La chaleur et la rougeur atteignent le maximum à la face palmaire de la phalangine; elles existent à un degré notable à la première phalange. Par contre, la phalange est plutôt pâle et froide, un peu asphyxique. La face dorsale du doigt est œdématisée; le dos de la main l'est aussi, dans une région qui suit à peu près le premier et le deuxième espace interosseux. Là, l'œdème est plus mou qu'au doigt; il n'est ni douloureux, ni rouge. Si l'on essaie d'allonger ou de fléchir le doigt, on détermine des souffrances vives. La deuxième phalange bombe beaucoup et paraît fluctuante. La pression révèle un maximum douloureux en dehors de la cicatrice de l'intervention précédente. L'aspect est exactement celui d'un panaris profond de la deuxième phalange de l'index » (1).

Pas d'adénopathie. Température : 38°2.

Nous incisons cette lésion. Aucun pus ne s'écoule. Le lendemain, ni le doigt, ni le membre supérieur ne sont plus douloureux. Guérison en une dizaine de jours. Dès lors, la malade doit abandonner le métier d'onduleuse, le doigt étant resté trop sensible aux pressions du fer à friser.

3<sup>e</sup> TROISIÈME ÉVOLUTION. — Le 20 février 1921, après une période plus brève de névralgies dans le membre supérieur, réitération des troubles dans l'index. N'étant pas auprès de la malade, nous ne pûmes la protéger contre une troisième erreur de diagnostic. Un chirurgien, croyant aussi à un panaris, pratiqua une troisième incision à 1 millimètre en dehors des premières. Ce traitement amena la guérison comme les deux autres fois.

4<sup>e</sup> QUATRIÈME ÉVOLUTION. — Deux mois plus tard, en avril 1921, quatrième poussée.

Les névralgies du membre supérieur ne furent qu'esquissées. Début brusque, un matin, au réveil.

Ayant laissé évoluer la lésion, nous observâmes :

Accroissement progressif du volume du doigt, qui devint en cinq jours double de son homologue. L'œdème dorsal de la main gagna le poignet. Pas d'adénopathie. Température : 38° les deux premiers jours. Perturbation des réactions vaso-motrices; cyanose et refroidissement du doigt, dès qu'il était à l'air frais; augmentation de la rougeur et de la douleur sitôt qu'on l'exposait à la chaleur.

(1) POINCLoux. *Loc. cit.*



Le sixième jour apparurent, sur la moitié externe de la face palmaire de la phalangine, cinq élevures épidermiques entourées d'une aréole rouge. Ces élevures se transformèrent le lendemain en vésicules arrondies, grosses chacune comme un grain de mil.

Le septième jour, les vésicules devinrent confluentes; limitées par un contour polycyclique.

Le neuvième jour, les vésicules s'étaient ouvertes les unes dans les autres, formant une petite phlyctène. A partir du moment où les vésicules se furent formées, les réactions douloureuses se calmèrent, l'infiltration diminua.

Vingt jours après le début de la poussée, la cicatrisation de l'ulcération qui avait précédé les vésicules fut achevée.

Pendant quelques semaines, persistèrent des troubles vaso-moteurs prédominant à l'extrémité de l'index et rappelant le syndrome d'asphyxie locale des extrémités.

5° CINQUIÈME ÉVOLUTION. — En avril 1922, récidue identique à celle que nous venons de décrire : les névralgies dans le membre supérieur durèrent une huitaine de jours avant le déclenchement des troubles digitaux qui comportèrent : une phase congestive pendant cinq à six jours, une éruption vésiculeuse, quelques troubles locaux consécutifs; bien moins accusés que la précédente fois. A la fin d'avril, la malade se plaignit pendant plusieurs jours d'une grande lassitude, d'une inaptitude totale au travail et d'*envies de dormir parfois insurmontables*. Ces symptômes se dissipèrent lentement en mai.

Les vésicules de cette poussée servirent à une première série d'expériences qui ont été résumées dans notre note à la *Société de Biologie* (8 juillet 1922).

6° En décembre 1922, éruption typique d'herpès à la cornée gauche : il y eut d'abord, pendant six jours, une phase de conjonctivite banale, puis formation de 4 vésicules confluentes qui guérèrent en une semaine, sans laisser de trace.

7° En mars 1923, réapparition des douleurs dans le membre supérieur droit. L'examen systématique montra qu'il s'agissait d'une névralgie radio-circonflexe nette : il existait un point douloureux à l'émergence du filet cutané du circonflexe, un autre à l'émergence du rameau cutané externe du radial, un autre devant le col chirurgical du radius, un dernier au tiers inférieur de l'avant-bras. Le plus constant de ces points douloureux correspondait à la bifurcation du nerf radial en branche musculaire et nerveuse, sous le pli du coude. Là, la pression en masse des muscles épicondyliens était très sensible au sujet.

Cette névralgie radiale dura pendant plusieurs mois, avec des périodes d'accalmie. Un point douloureux aigu apparut bientôt à l'index, près des cicatrices. Le membre supérieur droit ne redevint normal qu'en août. *Les névralgies avaient duré plus de cinq mois sans qu'aucune éruption soit apparue.*

8° Fin février 1924, la malade se sent prise de la lassitude qui accompagne les récides, de façon si nette qu'elle prévoit dès lors le retour de son mal.

Au début de mars, réapparition des névralgies, surtout à l'épaule et au coude. Doigt normal. Pendant tout le mois de mars, *tendance insolite au sommeil*.

*Dans l'entourage de la malade on constata qu'elle s'endormait à tout propos, même étant distraite par la conversation.*

Pendant la première semaine d'avril, l'index devint le siège de déman-



geaisons vives. Le 8, il augmenta un peu de volume, et des papules roses apparurent sur le bord externe de la première phalange de l'index. Le 21, un bouquet éruptif typique est constitué sur la seconde phalange, entre deux cicatrices.

Cicatrisation en dix jours. Les phénomènes généraux (fatigue, névralgies), l'enflure et la douleur du doigt ont cessé, une fois les vésicules rompues. Quant aux somnolences anormales, elles s'étaient peu à peu dissipées au début d'avril.

Récemment, le 10 juin 1924, une douleur sourde réapparut dans les muscles épicondyliens droits et, fait nouveau, la malade ressentit de vives démangeaisons à la peau de la moitié antéro-externe de l'avant-bras. Les vésicules observées cette année ont servi à des expériences dont nous allons indiquer les résultats.

CONCLUSION. — Il s'agit d'un cas d'herpès récidivant à localisation insolite, ayant évolué à six reprises en cinq ans, chaque récurrence s'étant produite au printemps. La première atteinte ne fut pas précédée de névralgies; quatre des cinq récurrences le furent. Ces névralgies, localisées au nerf radial droit, eurent une durée anormale en matière de névralgies herpétiques pré-éruptives (sept à huit semaines en 1924). Elles ont une fois existé seules, sans aboutir à l'éruption. Enfin, en 1922 et en 1924, la malade, pendant les périodes post et pré-éruptive, souffrit de malaise général et d'envies insurmontables de dormir.

## II. — Etude expérimentale.

Nous avons étudié les caractères du virus herpétique M. C. en deux séries d'expériences: l'une entreprise en avril 1922, l'autre en avril 1924.

En outre, nous avons étudié la virulence de la salive du sujet au point de vue kérato-encéphalitogène, à seize reprises pendant deux ans.

Enfin, nous avons pratiqué, sur le sujet lui-même, des inoculations de virus herpétique et une intervention chirurgicale, ayant eu pour but de remplacer par de la peau saine la peau où se produisaient les récurrences.



## I. — EXPÉRIENCES ACCOMPLIES

AVEC LA SOUCHE DE VIRUS ISOLÉE EN 1922 (1) (2).

Elles ont consisté en inoculations à 18 lapins, par voies cornéenne, cutanée ou cérébrale.

Toutes ces expériences sont d'accord avec ce que l'on sait, en général, de l'herpès. Nous ne citerons que les plus démonstratives.

*A. Mise en évidence du virus présent dans les vésicules  
du 15 avril 1922.*

a) Le produit de raclage d'une vésicule de l'index fut inoculé le 15 mai à la cornée du lapin 29 A. B.

Le 19, kérato-conjonctivite franche.

Le 22, kérato-conjonctivite très intense. L'animal tourne la tête du côté inoculé.

Le 23, dixième jour, mort de l'animal.

Culture du cerveau : négative.

*Examen histologique :* a) Kératite herpétique typique.

b) Lésions intenses de méningite à mononucléaires (gros mononucléaires infiltrés de pigment; lymphocytes, cellules plasmiques). Encéphalite corticale à polynucléaires. Manchons périvasculaires typiques. Petits foyers aigus en plein parenchyme.

La kératite de cet animal (29 A. B.) servit à réaliser un passage de cornée à cornée sur le lapin 62 A. B., qui fit une kérato-conjonctivite intense, donna des signes nets d'encéphalite, mais entra en voie de guérison le vingt-cinquième jour.

Le cerveau du lapin 29 A. B. servit à entreprendre des passages par inoculation intracérébrale, aux lapins 74 A. B. et 2 K.

Mais ces passages s'arrêtèrent, dans un cas au premier animal, dans l'autre au second. Le *virus M. C. 1922 apparaît, en effet, comme peu adaptable au névraxe.*

Voici le détail de ces tentatives :

b) Le cerveau du lapin 29 A. B. sert à infecter, par voie intracrânienne, le lapin 74 A. B.

Mort le trente-deuxième jour. Culture du cerveau négative.

(1) NICOLAU et POINCLoux. *Loc. cit.*

(2) BLANC et CAMINOPELOS (Ces *Annales*, 33, n° 2, p. 152) signalent les particularités du cas M. C.



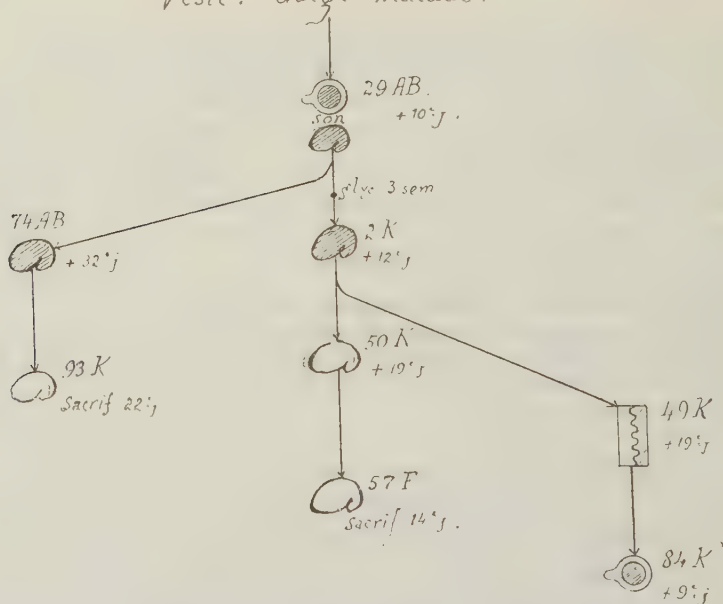
Coupes: A la base, vers le mésocéphale, méningite à mononucléaires et manchons périvasculaires typiques. Pas d'encéphalite proprement dite et absence de lésion de la zone élective.

Passé au cerveau du lapin 93 K., le cerveau de cet animal (74 A. B.) ne provoqua pas la mort. Cependant, le lapin 93 K. ayant été sacrifié le vingt-deuxième jour, l'examen de son encéphale révéla des lésions typiques d'encéphalite herpétique en voie de régression (1).

c) Le cerveau du lapin 29 A. B., après avoir séjourné pendant trois semaines

*Virus M. C. de 15. IV. 1922.*

*Vesic. doigt malade.*



SCHEMA 1.

dans la glycérine, servit à infecter le lapin 2 K. par voie intracrânienne.

Mort de l'animal le douzième jour. Culture du cerveau: négative.

Coupes: Lésions typiques très intenses. Méningite à mononucléaires corticale et des septa. Manchons périvasculaires. Encéphalite aiguë. Lésions de la zone élective.

Le passage du cerveau de cet animal (2 K.) à celui du lapin 50 K. déter-

(1) Des lésions analogues ont été décrites sous le nom de « lésions d'immunité » chez des lapins qui, ayant survécu à l'inoculation de virus herpético-encéphalitique, se sont ultérieurement montrés résistants à une inoculation intracrânienne de virus encéphalitique fixe. LEVADITI et NICOLAU, L'immunité dans les ectodermoses neurotropes. C. R. Acad. Sc., 173, 1921, p. 794.



mina, chez ce dernier, une encéphalite mortelle (dix-neuvième jour), avec lésions intenses caractéristiques; mais les passages positifs s'arrêtèrent à cet animal, le lapin 57 F., inoculé dans le cerveau avec une émulsion du cerveau de 50 K. ayant survécu et n'ayant pas présenté de lésions.

Par ailleurs, une émulsion du cerveau du lapin 2 K. servit à infecter la peau du flanc du lapin 49 K. qui fit une belle éruption papulo-pustuleuse. La sérosité des pustules de cet animal, inoculée à la cornée du lapin 84 K., provoqua une kérato-conjonctivite mortelle; méningite à mononucléaires de la base et des septa. Pas d'encéphalite, ni de manchons (lésions atténuées).

*En résumé:* Ces essais montrent que l'éruption du doigt de M. C. était bien de nature herpétique, mais qu'il ne fut pas possible d'adapter au névraxe le virus M. C. 1922. A partir de la kératite initiale mortelle, un passage positif avec incubation prolongée (trente-deux jours) fut réalisé dans une chaîne, et deux passages (douze et dix-neuf jours) dans une autre chaîne. Les lésions obtenues étaient du type subaigu.

Cependant les éruptions ectodermiques (cornée et peau) provoquées par ce virus étaient intenses.

Les expériences que nous venons de rapporter sont résumées dans le schéma 1.

*B. Le virus herpétique est-il décelable dans la peau où se produisent les récides vingt-huit et quarante-deux jours après l'éruption?*

Les essais entrepris avec le produit de raclage du doigt, vingt-huit jours et quarante-deux jours après le début des vésicules, ne nous ont donné que des résultats négatifs, d'où nous concluons que, chez notre malade, après les éruptions, le virus cesse rapidement d'être décelable dans les tissus mêmes où se produisent les récides.

*C. Le virus herpétique existait-il dans le liquide céphalo-rachidien recueilli vingt jours après le début de l'éruption digitale?*

L'expérimentation a répondu à cette question par la négative (inoculations dans la chambre antérieure de l'œil, sur la cornée et dans le cerveau).



\*  
\*  
\*

En mars 1923, lorsque M. C... subit une reprise des névralgies qui, depuis la première atteinte, ont, de façon plus ou moins intense et durable, précédé les éruptions digitales, nous voulûmes chercher si le virus était déjà décelable dans l'épiderme cicatriciel de son index. Nous n'avons obtenu que des résultats négatifs.

## II. — EXPÉRIENCES ACCOMPLIES AVEC LE VIRUS DE 1924.

Elles ont porté sur 40 lapins et 2 singes inférieurs.

Les animaux ont été inoculés par voies cornéenne, culanée ou intracrânienne. Nous donnerons un résumé rapide des plus caractéristiques d'entre elles.

### 1. — *Mise en évidence et passage du virus existant dans les vésicules du 21 avril 1924.*

A l'origine, 2 lapins (754 et 755) furent inoculés à la cornée avec le produit de raclage d'une vésicule du doigt malade.

Ils réagirent l'un et l'autre par une kérato-conjonctivite typique, moururent respectivement au bout de dix et de onze jours ; ils présentaient des lésions d'encéphalite herpétique typiques :

Cerveau : méningite à mononucléaires, surtout à la base.

Pas de lésions de la « zone élective ».

Mésocéphale : Foyers d'encéphalite aiguë. Manchons périvasculaires. Méningite à mononucléaires. Lésions des neurones.

Cornée : Kératite herpétique typique.

Disons tout de suite qu'un autre prélèvement, pratiqué deux jours plus tard sur le doigt de la malade, provoqua aussi une kérato-conjonctivite suivie de mort par encéphalite, le onzième jour (lésions caractéristiques).

*Les plus importants passages* furent accomplis à partir du cerveau du lapin 754 (mort le dixième jour après inoculation cornéenne).



a) Deux singes inférieurs (*Mac. cynomolgus*), inoculés par voie intracrânienne avec ce matériel, n'ont présenté aucun trouble. Ce fait vérifie la résistance spontanée habituelle du névraxe des singes, même inférieurs, à l'égard des virus encéphalitogènes non adaptés à l'espèce simiesque (1).

b) Deux lapins furent inoculés, l'un à la peau du flanc, l'autre à la cornée, avec le même matériel que les deux singes. Ils réagirent, l'un par une éruption, l'autre par une kérato-conjonctivite et survécurent tous deux.

c) Enfin un cinquième animal, le lapin 810, reçut sous la dure-mère une émulsion du même matériel qui, répétons-le, était le cerveau d'un des deux lapins inoculés à l'origine avec la sérosité vésiculaire du sujet.

C'est de ce lapin 810, qui mourut seulement le quatorzième jour, ayant des lésions cérébrales typiques, mais atténuées, que dérivent la plus grande partie de nos expériences.

Trois chaînes de passages furent entreprises à partir de ce dernier animal; deux seulement purent être poursuivies, car un des lapins ne mourut pas, fait qui est, à notre sens, très intéressant en ce qu'il montre l'importance de la sensibilité de l'animal. Voici quelles sont ces trois tentatives :

a) Le lapin 896 reçoit sous la dure-mère 0,3 c. c. d'émulsion du cerveau du lapin 810. Il montre les signes classiques d'encéphalite le quatorzième jour, mais se remet ultérieurement et semble guéri le vingt-quatrième jour.

Sacrifié le quarante-septième jour, son cerveau présentait des lésions atténuées.

b) Le lapin 894 reçoit la même dose d'émulsion sous la dure-mère. Il succombe le dixième jour. Cultures du cerveau négatives.

Lésions typiques très intenses (foyers d'encéphalite dans la zone élective).

A partir du cerveau de cet animal, un grand nombre de passages furent exécutés. Nous ne retiendrons que deux des lignées qui s'en détachent (une chaîne exclusivement cérébrale; une série cérébrale et ectodermique).

c) Le troisième animal, lapin 912, reçoit le même matériel (émulsion du cerveau du lapin 810) sur la peau du flanc droit, préalablement épilée et rasée. Fait très intéressant, aucune éruption nette, comme celle que le virus M. C. 1924 est capable de produire (cf. figure 2) ne put être observée après cette inoculation cutanée. Et cependant, l'animal présentait le quatorzième jour une paralysie du train postérieur; il mourut le quinzième jour; sa moelle et son cerveau offraient des lésions typiques intenses; plusieurs passages positifs faits avec l'encéphale vinrent attester que l'animal était bien mort de névraxite herpétique.

Lésions : 1° Cerveau : méningite à mononucléaires; manchons périvasculaires; foyers d'encéphalite. Légères lésions de la zone élective.

2° Moelle : Méningite à mononucléaires; manchons périvasculaires des septums. Poliomyélite des cornes postérieures avec neuronophagie. (cf. fig. 3.)

3° Ganglions rachidiens : Lésions moins intenses que celles de la moelle.

(1) LEVADITI, NICOLAU et POINCELOUX. *C. R. Soc. Biol.*, 90, 1924, p. 1376.



A partir du cerveau de cet animal (lapin 912), une série de passages cérébraux, avec collatérales de contrôle par inoculation à la cornée et à la peau, fut obtenue.

Nous sommes donc en présence des expériences suivantes :

1° A l'origine : animal inoculé à la cornée, mort le dixième jour.

2° Ensuite : animal inoculé sous la dure-mère avec le cerveau du précédent; mort le quatorzième jour.

3° Enfin : animal (894) inoculé avec le cerveau du précédent,

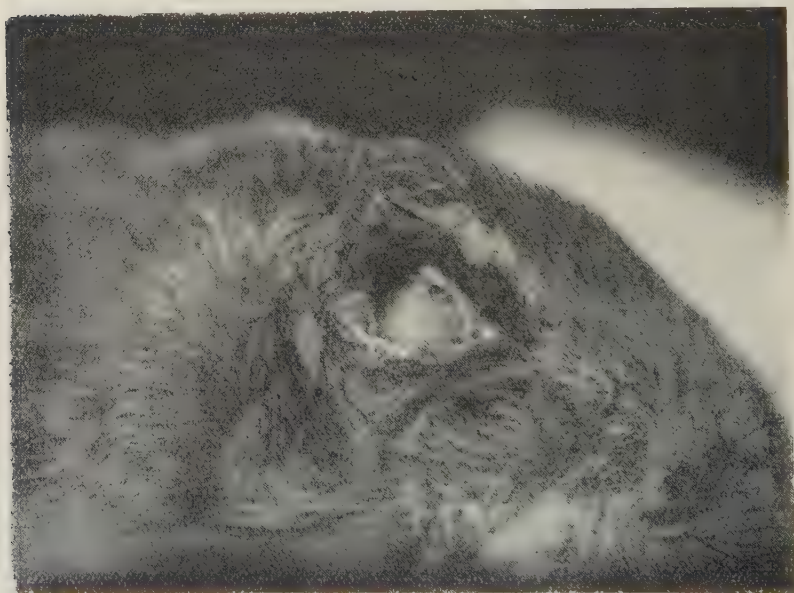


FIG. 4.

sous la dure-mère (mort le dixième jour) et un lapin (912) inoculé au flanc avec le même matériel (mort le quinzième jour).

Deux séries principales de passages ont été obtenues à partir du cerveau du lapin 894 ; une série à partir du cerveau du lapin 912.

Que nous a appris l'ensemble de ces expériences?

1° A partir du cerveau du lapin 894, conservé en glycérine pendant vingt-deux jours, nous obtenons 3 passages cérébraux



consécutifs, les animaux (221 A; 244 A; 286 A) mourant respectivement le troisième, le septième et le quatrième jour. Les lésions histologiques observées sont typiques.

Cette série, que nous avons interrompue volontairement, montre que le virus M. C. 1924 est parfaitement adaptable au névraxe du lapin. Le dernier animal de cette chaîne est le sixième passage depuis l'éruption d'origine. Il meurt après une incubation très brève. Donc le virus M. C. 1924 semble nettement plus neurotrope que celui de 1922.

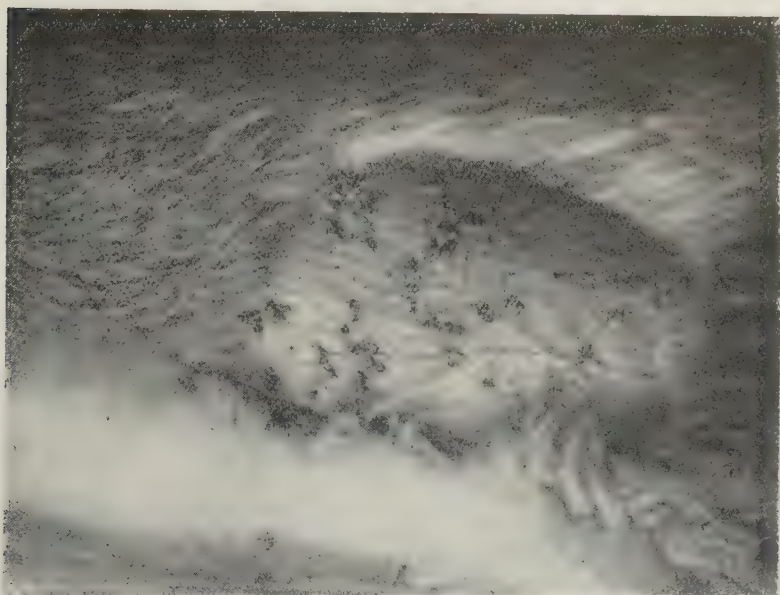


FIG. 2.

2° A partir du même matériel (cerveau du lapin 894), mais sans séjour dans la glycérine, nous avons obtenu cinq passages positifs consécutifs. Ces passages sont poursuivis. Voici en quoi ils ont consisté (pour abréger nous désignerons les lapins par leurs numéros).

a) Le cerveau de 894 est passé au cerveau de 976. Mort le quatrième jour. Lésions atténuées.

b) Le cerveau de 976 est passé à la peau et à la cornée de 998. Cet animal réagit par les lésions dont les photographies sont données dans ce mémoire



(fig. 1 et 2). Il meurt le dixième jour. Lésions caractéristiques d'encéphalite herpétique qui intéressent la zone élective.

c) Le cerveau de 998 est passé au cerveau de 198-A, qui meurt le sixième jour.

Lésions typiques d'intensité moyenne.

d) Le cerveau de 198-A est passé au cerveau de 232-A qui meurt le huitième jour,

e) Le cerveau de 232-A est passé au cerveau de 283-A qui meurt le dixième jour.

Cette chaîne, que nous continuons à entretenir, montre, comme la précédente, que le virus M. C. 1924 est parfaitement adaptable au névraxe de l'animal et que, après avoir subi trois passages exclusivement cérébraux, il conserve, à côté de son affinité pour le névraxe, un dermatropisme intense. Cette série prouve donc non seulement le neurotropisme de la souche, mais l'intensité de sa virulence générale.

3° La troisième série d'expériences a été conduite à partir du cerveau du lapin 912 qui, on se le rappelle, avait été inoculé à la peau du flanc, n'avait pas présenté d'éruption, mais était mort le quinzième jour et avait des lésions médullaires et cérébrales intenses.

La moelle du lapin 912 a été passée au cerveau du lapin 997. Résultat négatif.

Le cerveau du lapin 912 a été passé au cerveau du lapin 995, qui est mort le cinquième jour. (En même temps, contrôle cutané et cornéen positif sur le lapin 993.)

Le cerveau de 995 a été passé au cerveau de 131-A, qui est mort le septième jour. Lésions positives.

Le cerveau de 131-A a été passé à 208-A (peau, cornée) et à 204-A (cerveau).

a) 208-A a fait une kérato-conjonctivite intense et une éruption comparable à celle de la figure représentant les lésions du lapin 998. Il est mort le neuvième jour.

Lésions cérébrales : légère méningite à mononucléaires, manchons périvasculaires.

Lésions médullaires : méningite à mononucléaires, manchons périvasculaires, surtout dans les cordons postérieurs. Poliomyélite des cornes postérieures. Les lésions sont moins intenses dans la moelle cervicale. Très légères lésions des ganglions rachidiens.

b) 203-A est mort le cinquième jour d'une encéphalite typique.

Lésions : Méningite à mononucléaires et polynucléaires. Encéphalite aiguë. Altérations cellulaires des noyaux bulbaires.

Cette troisième et dernière série de passages fournit exactement les mêmes résultats que la seconde. Le virus M. C. 1924



*Virus M.C. de 21.IV.1924*  
*Vesic doigt malade*

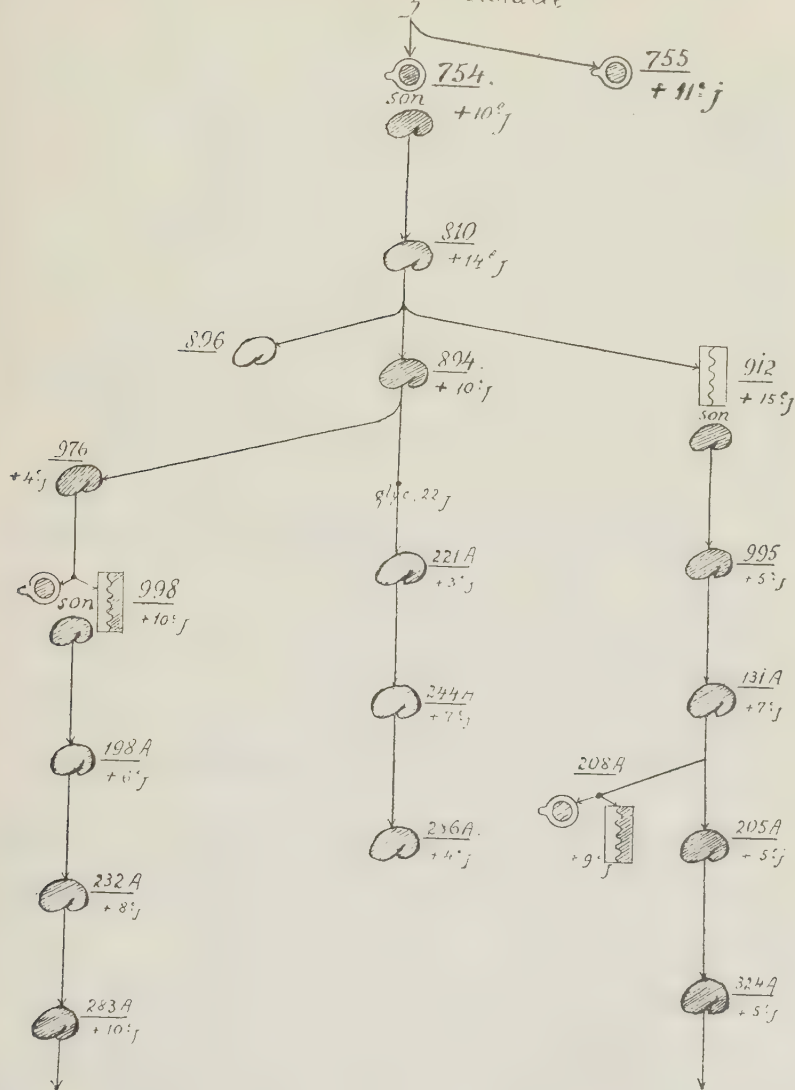


SCHÉMA 2.

a un neurotropisme beaucoup plus intense que celui de 1922, et son affinité pour l'ectoderme se conserve, malgré l'exaltation de son affinité névraxique.



Mais cette chaîne d'expériences nous apprend, en outre, que la moelle d'un animal inoculé à la peau du flanc peut n'être pas virulente, malgré qu'elle soit atteinte de lésions intenses. Ce fait indique que l'affinité du virus pour le névraxe n'est pas égale pour toutes ses parties. En cas de mort par encéphalite herpétique, le cerveau en contient plus que la moelle et, dans le cerveau, certaines régions sont plus fortement lésées que d'autres.

L'ensemble de ces expériences est résumé par le schéma 2.

II. — Pour compléter les tentatives (restées toutes négatives) de déceler le virus dans la peau du doigt, avant ou après les éruptions, nous avons inoculé à la cornée de deux lapins une pulpe préparée avec un fragment de la peau malade excisée par nous le 16 mai 1924, au cours de l'intervention que nous décrivons plus loin. Les résultats ont été négatifs.

III. — *Étude du pouvoir kérato-encéphalitogène de la salive de M. C.*

Éprouvée seize fois en deux ans, la virulence de la salive s'est montrée :

Quatre fois nulle ;

Deux fois faiblement kératogène ;

Huit fois kératogène avec plus ou moins d'intensité ;

Deux fois kérato-encéphalitogène.

Cette étude, sans apprendre de faits nouveaux, a confirmé ceux déjà établis par Levaditi, Harvier et Nicolau (1).

1° *La virulence salivaire, au point de vue du pouvoir kérato-encéphalitogène, est très variable dans le temps :*

Le 3 décembre 1922, salive inactive ;

Le 4 décembre 1922, salive kératogène ;

Le 18 mars 1923, salive inactive ;

Le 23 mars 1923, salive kérato-encéphalitogène.

2° *La virulence salivaire est, jusqu'à un certain point, indépendante des accidents herpétiques en évolution :*

Le 3 décembre 1922, herpès cornéen. Salive inactive ;

(1) LEVADITI, HARVIER et NICOLAU. Ces Annales, 36, 1922, p. 34.



Le 18 mars 1923, névrite radiale intense; salive inactive.

Il faut cependant observer que les deux seules fois, sur seize prélèvements, où la salive ait été encéphalitogène (28, IV. 22; et 23. III. 23) ont coïncidé avec des accidents herpétiques (éruption en 1922 et névrite en 1923).

3° *Le pouvoir encéphalitogène du virus salivaire M. C. s'est toujours montré faible.* Sur 3 lapins morts de kérato-encéphalite salivaire (vingt et unième jour, neuvième jour et septième jour), deux n'ont donné lieu à aucun passage positif. Le troisième a donné deux passages mortels, le premier seulement ayant des lésions caractéristiques.

4° *Le virus salivaire M. C. ne confère habituellement pas l'immunité, ni cornéenne, ni cérébrale contre une souche très virulente* (souche herpétique Blanc; souche encéphalitique C.).

Il peut *exceptionnellement* la donner :

1° Le lapin 96-J, inoculé à la cornée, le 5 décembre 1922, avec la salive M. C., fait une kérato-conjonctivite faible. Inoculé quarante-trois jours après avec la souche B, il réagit par une kératite forte, mais *non mortelle*.

2° Le lapin 75-CP, inoculé à la cornée le 14 janvier 1923 avec la salive M. C., fait une kératite moyenne. Epruvé le vingt-cinquième jour avec la souche B, il fait aussi une kératite, mais *ne meurt pas*. Sacrifié au bout de 111 jours, son cerveau portait des lésions chroniques (« lésions d'immunité »).

5° *M. C. apparaît comme un porteur de germes salivaires, capables de propager l'infection herpético-encéphalitique.*

#### IV. — Inoculation du virus herpétique au sujet.

*Greffe de peau saine sur l'index malade.*

A ces recherches, il faut ajouter : les inoculations de virus herpétique à la malade elle-même et la greffe de peau saine que nous avons exécutée le 16 mai dernier sur son index.

1° Nous avons inoculé au sujet, après scarification superficielle, son propre virus digital qui avait déterminé la mort du lapin 754 par kérato-conjonctivite et encéphalite herpétiques. Ce matériel était virulent, puisque tous nos passages en découlent. Nous avons ainsi procédé, le 2 mai dernier, sur la peau de



l'index malade dans la zone des récidives, sur la peau des deux épaules et celle des deux cuisses.

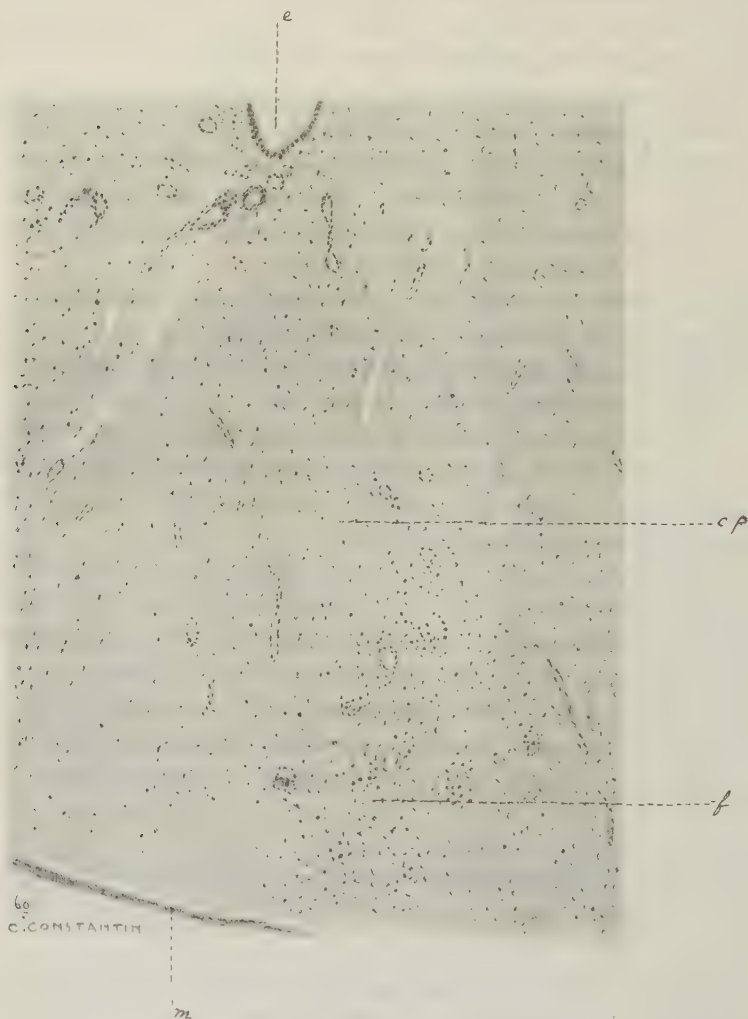


FIG. 3. -- Coupe de la moelle du lapin 912. e, épendyme; cp, corne postérieure; f, foyers de myélite; m, méninges.

### Résultats :

A l'index : résultat complètement négatif. Le surlendemain, la scarification n'est plus du tout visible.



A l'épaule droite : résultat négatif.

A l'épaule gauche : papule nette, entourée le quatrième jour d'une toute petite aréole.

A la cuisse droite : papule.

A la cuisse gauche : résultat négatif.

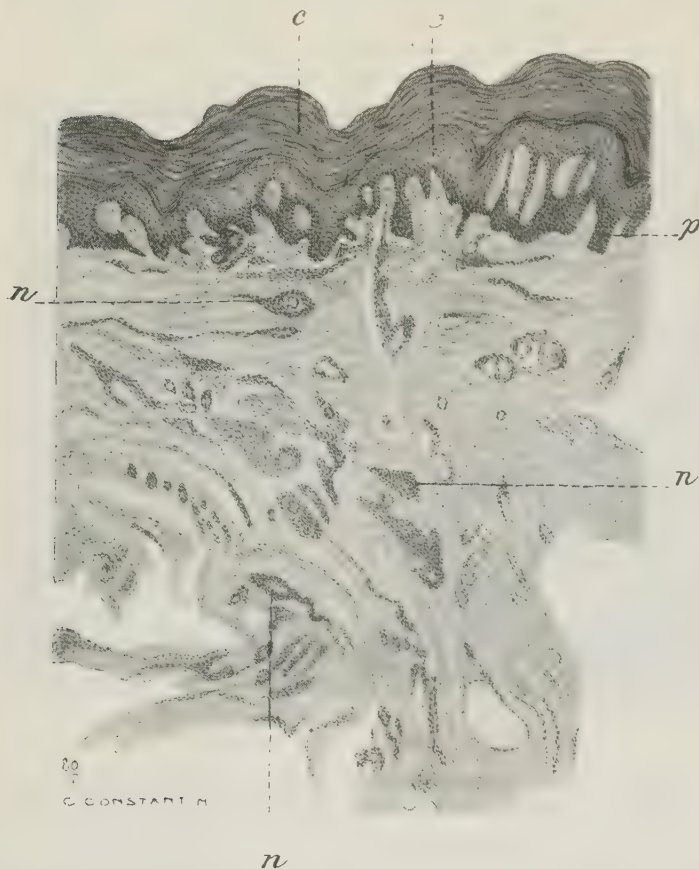


FIG. 4. — Coupe de peau de l'index de la malade M. C. *c*, couche cornée; *e*, couche de Malpighi; *p*, papille; *n*, vaisseaux entourés de manchons.

Ces inoculations nous apprennent que les téguments de notre malade ne présentent point de sensibilité particulière vis-à-vis du virus herpétique. La peau offre même un état réfractaire complet à l'égard des infections exogènes expérimentales, au niveau de son index malade, de son épaule droite



et de sa cuisse gauche. Mais il faut rappeler à ce sujet ce que nous avons montré par ailleurs (1) : « L'inoculation exogène met en jeu des processus qui diffèrent manifestement de l'infection spontanée endogène » ; en sorte qu'il peut être impossible d'obtenir une inoculation positive chez un sujet, en quelque endroit de sa peau que ce soit, avec son propre virus ou un

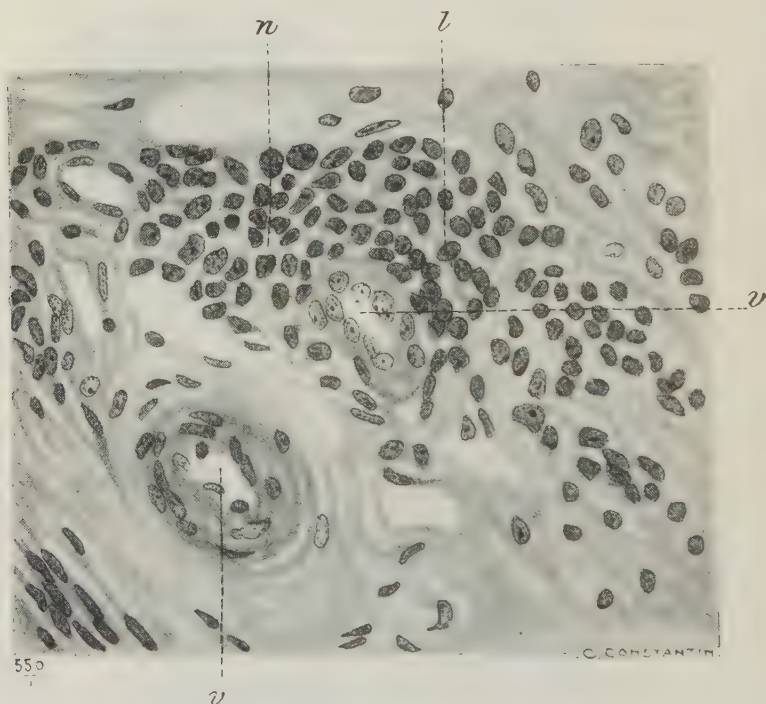


FIG. 5. — Coupe de peau de la malade M. C. (index). v. vaisseaux ; n, nodule périvasculaire ; l, lymphocytes.

autre germe, dans la période même où il fait une éruption spontanée.

2° *Grefe de peau saine sur le doigt malade.* — Le 16 mai, sous anesthésie locale, nous avons disséqué le rectangle de peau de l'index droit où surviennent les récidives. Pour garnir la surface ainsi cruentée, le doigt fut introduit et assujetti par

1) NICOLAU et POINCLoux. *C. R. Soc. Biol.*, 89, 1923, p. 779.



des sutures dans un tunnel de peau ménagé à la face antéro-externe de la cuisse droite.

Les deux pédicules du greffon, très larges, n'ont été sectionnés respectivement que le 23 et le 25 mai. De cette manière, le greffon a pris de façon satisfaisante. Le 15 juin, la cicatrisation était achevée et aucune rétraction cicatricielle ne semblait devoir être redoutée. La surface dégarnie de peau, à la cuisse, s'est réparée en partie par rapprochement des lèvres, en partie par épidermisation secondaire.

Peut-être l'ablation de la peau où ont lieu les récides en interrompra-t-elle la série. De toute façon, la suite des événements chez notre malade sera influencée de manière intéressante par cette tentative thérapeutique (1).

Nous avons signalé plus haut l'échec des inoculations pratiquées avec une pulpe de la peau malade extirpée. Par ailleurs, cette peau a été examinée *histologiquement* ; voici quelles sont les lésions que nous avons observées.

Hyperkératose ; hypertrophie de la couche de Malpighi. Inflammation des papilles, à éléments mononucléaires. Dans le derme, manchons périvasculaires à mononucléaires analogues à ceux que l'on observe dans le cerveau ou la moelle (cf. fig. 4 et 5).

### III. — Enseignement fourni par le cas M. C.

#### 1° LA VIRULENCE DES SOUCHES HERPÉTIQUES M. C.

Les souches recueillies sur l'index de la malade en 1922 et en 1924 sont différentes l'une de l'autre : avec la première, on ne peut obtenir qu'un passage cérébral positif dans une série et *deux* passages dans une autre. Les incubations sont de longue durée (en moyenne, vingt et un jours). Avec la seconde souche, on obtient trois chaînes principales de passages : l'une, de *cinq* passages positifs (incubation moyenne, sept jours) ; l'autre, de

(1) En septembre 1924, la malade déclare que son index droit a repris l'agilité qu'il avait il y a cinq ans, avant toute atteinte d'herpès et qu'elle n'y éprouve plus aucune des sensations anormales qui l'empêchaient de s'en servir commodément.



six passages (moyenne, huit jours); la dernière, de cinq passages (moyenne, neuf jours).

Les deux souches ont une virulence en apparence identique pour l'ectoderme; c'est le neurotropisme plus intense qui distingue la souche M. C. 1924 de la souche M. C. 1922.

Sans en tirer de conclusion, nous rapprochons ce fait de l'accentuation progressive des signes nerveux observés chez notre malade depuis 1922 (névralgies sans éruption pendant cinq mois en 1923; névralgies et tendances léthargiques pendant sept à huit semaines en 1924).

2° IMPORTANCE DU RÔLE JOUÉ PAR LE TERRAIN, AUSSI BIEN  
DANS LES FAITS EXPÉRIMENTAUX QUE DANS LES FAITS CLINIQUES.

a) L'avenir d'une souche, au point de vue de son adaptation à l'animal, peut être gravement influencée par la résistance ou la réceptivité anormales des animaux utilisés au début, tant que l'entraînement du germe n'en a pas rendu fixe la virulence.

En effet, à partir du lapin 810 (premier passage cérébral), deux lapins sont inoculés dans le cerveau: l'un meurt le dixième jour et permet d'obtenir deux séries de passages positifs; l'autre devient malade le quatorzième jour, mais guérit ultérieurement.

Ce fait, très fréquemment observé, doit entraîner cette règle: au début de l'expérimentation avec une souche de virus, il faut inoculer le plus grand nombre d'animaux possible.

b) Au point de vue clinique, l'influence du terrain apparaît plus prépondérante encore: nous avons isolé une autre souche herpétique, la souche *Am* (1), qui s'est révélée très fortement encéphalitogène, l'incubation atteignant cinq jours en moyenne après quatre à cinq passages, les lésions histologiques étant particulièrement sévères; or, le malade dont elle provenait était atteint d'un herpès récidivant génital des plus banaux, sans aucune névralgie. Le virus M. C., cependant expérimentalement moins neurotrope, provoque des troubles nerveux chez son porteur.

(1) NICOLAU et POINCLoux. *C. R. Soc. Biol.*, 89, 1923, p. 779.



3° CHEZ LE LAPIN, LA RÉSISTANCE DU NÉVRAXE AU VIRUS HERPÉTIQUE  
PEUT ÊTRE, EXCEPTIONNELLEMENT,  
PLUS FAIBLE QUE LA RÉSISTANCE DE SA PEAU.

L'exemple du lapin 912 qui, inoculé à la peau du flanc avec une pulpe cérébrale virulente, ne fit pas d'éruption *macroscopique*, mais se paralysa et mourut le quinzième jour, avec des lésions médullo-cérébrales et du virus dans l'encéphale, montre que la résistance globale d'un animal vis-à-vis de l'infection herpétique peut être décomposée en résistances partielles, puisque cet animal apparaît spontanément immun dans sa peau et vulnérable dans son névraxe.

Il semble bien que le terrain humain réalise le plus souvent un dispositif inverse, puisqu'on n'a pas encore signalé de trouble encéphalique à la suite d'inoculations herpétiques cutanées.

4° HYPOTHÈSES DE PATHOGÉNIE SUGGÉRÉES PAR LES PARTICULARITÉS  
CLINIQUES ET EXPÉRIMENTALES DU CAS M. C.

Si l'on ne peut, actuellement, assigner un mécanisme exact à l'herpès récidivant en général, au moins nous est-il permis de formuler une hypothèse sur les processus intimes aboutissant, chez notre malade, aux faits cliniques suivants :

A. Localisation singulière de l'herpès.

B. Première atteinte non précédée de troubles nerveux, contrastant avec les récurrences, qui succèdent à des névralgies parfois très durables.

A. La localisation de l'herpès à l'index droit de M. C. pose plusieurs problèmes :

a) Source du virus ;

b) Moyen d'apport du virus ;

c) Cause d'appel du virus en cette zone insolite.

a) Tout porte à croire que la cavité bucco-pharyngée, où un virus kératogène est trouvé présent quatorze fois sur seize essais chez notre malade, soit la réserve d'où le virus peut être trans-



porté en tel ou tel point de l'organisme. Rappelons ce qu'ont montré les recherches de Levaditi, Harvier et Nicolau : dans la cavité buccale, les virus kératogènes vivent au contact de l'épithélium, et pénètrent dans la salive au fur et à mesure que cet épithélium desquame.

b) De ce point de départ, le virus peut entrer en migration, suivant trois modes principaux dont aucun ne peut être éliminé *a priori* :

1° Transport externe, l'index ayant pu être accidentellement souillé de salive dans le cas qui nous occupe. Une éraillure ectodermique de la phalangine aurait alors pu servir de porte d'entrée.

2° Cheminement par voie nerveuse (nerfs craniens, névraxe, nerfs rachidiens). Les faits expérimentaux, démontrant la réalité de la propagation du virus herpétique par la voie du système nerveux, sont trop bien établis pour que cette hypothèse puisse être écartée.

3° Enfin, propagation par voie sanguine. Il n'est pas impossible que les virus salivaires, entraînés dans le trajet gastro-intestinal par la déglutition, puissent entrer dans la circulation à ce niveau; d'autre part, des expériences en cours paraissent nous montrer la possibilité que ce mécanisme se réalise pour le germe vaccinal. A la faveur d'une angine, d'une érosion de la muqueuse buccale coïncidant avec une virulence forte des virus salivaires kératogènes, ceux-ci peuvent sans doute pénétrer dans la circulation et réaliser une septicémie silencieuse et passagère.

c) Quoi qu'il en soit du mode d'apport du germe à la région où vont se produire les éruptions, quelle est la cause qui détermine la germination du virus en ce point particulier : la moitié externe palmaire de la deuxième phalange de l'index droit? Ce fait nous semble explicable, si l'on se rappelle qu'en cette zone, la peau de l'index était épaissie, douloureuse, irritée par un traumatisme professionnel pendant plusieurs mois. Or, l'irritation caryocinétique d'un épithélium est une cause manifeste d'appel pour les ultra-virus ectodermotropes. Rappelons le rôle de l'arrachement des poils pratiqué en même temps qu'une injection intraveineuse de virus vaccinal : il détermine une centralisation du virus dans la région épilée, là



où l'activité caryocinétique des bulbes pileux est exaltée pour la régénération des poils (1).

Rappelons aussi la culture élective de ces ultra-virus dans les néoplasmes épithéliaux (2), et le fait qu'un coq immunisé contre la vaccine fait néanmoins des pustules typiques au point injecté, quand on l'inocule avec un mélange de virus épithéliomateux aviaire et de germe vaccinal (3).

Ces données autorisent à admettre que la multiplication anormale des cellules malpighiennes en une région déterminée de l'index droit, multiplication rendue évidente par l'épaississement de la peau, a suffi à localiser en ce point un virus, ou bien apporté par hasard du dehors, ou cheminant silencieusement dans le système nerveux, ou circulant dans le sang.

*B. Les récides.* — Si la cause d'appel du virus fut bien l'excitation caryocinétique dont une petite région de la peau de l'index M. C. était le siège en mai 1919 depuis sept mois, cette étiologie ne peut être invoquée pour aucune des récides, la malade ayant d'abord cessé d'user de ce doigt pour travailler, puis ayant changé de métier.

Nous croyons que dans ce cas, comme dans tous les cas de vraies récides herpétiques, il faut supposer la survie du virus dans l'intervalle des crises, en un point des tissus du patient. Nous rappelons à ce sujet qu'à cinq reprises, nous avons cherché le virus dans la peau malade après guérison des vésicules, ou avant leur apparition, et que nous n'avons jamais pu le mettre en évidence.

En raison de ce fait expérimental, en raison de ce fait clinique : la précession des névralgies dans les récides, nous formons l'hypothèse que le virus herpétique, chez M. C., puisse survivre en un point de son système nerveux que la souffrance élective du nerf radial droit permet de circonscrire, sans qu'on puisse autrement le préciser.

Rappelons, pour étayer cette supposition, que les réactions lymphocytaires du liquide céphalo-rachidien sont très fréquentes au cours de l'herpès récidivant, même non névral-

(1) LEVADITI et NICOLAU. *C.R. Soc. Biol.*, 86, 1922, p. 986.

(2) LEVADITI et NICOLAU. *Ces Annales*, 37, 1923, p. 443.

(3) LEVADITI et NICOLAU. *Ces Annales*, 37, 1923, p. 96.



gique. Ravaut et Darré (les *Annales de Dermatologie et de Syphiligraphie*, juin 1904) s'expriment ainsi : « Sur vingt-six malades atteints d'herpès génital, vingt et un présentaient des réactions nettes de liquide céphalo-rachidien; chez l'un d'eux, atteint d'une forme névralgique, le liquide était louche, tant était intense la réaction cellulaire. »

Nous pensons donc que, sans en avoir la preuve formelle, on peut admettre que chez notre malade le virus survive, entre les crises, dans une partie de son système nerveux périphérique qui va de la phalangine de l'index droit à la moelle cervicale. Nous ne voyons pas, en effet, comment la survie du germe dans la seule région où se forment les vésicules rendrait compte des névralgies de l'épaule et de l'avant-bras qui se produisent non seulement avant les éruptions, mais, en 1923, isolément.

Nous retenons d'autant plus volontiers cette hypothèse, que l'observation clinique de M. C... nous montre, outre des névralgies étendues et durables, une autre manifestation de souffrance nerveuse : les tendances irrésistibles au sommeil qu'elle a présentées en 1922, après son éruption et, cette année surtout, pendant les sept à huit semaines qui l'ont précédée. Nous pensons qu'elles expriment le conflit du virus herpétique avec l'encéphale du sujet, comme les névralgies expriment l'irritation du nerf radial par le germe. C'est par cette particularité que le cas M. C... nous semble être le plus intéressant : il offre une forme de transition entre l'herpès cutané et la maladie de von Economo.

Tout en se gardant de faire dire à une observation clinique plus qu'elle ne le peut, il faut néanmoins retenir les cas exceptionnels que la maladie réalise : ce sont de vraies expériences spontanées.

De même que l'encéphalite épidémique présente des recrudescences hivernale et printanière, la réactivation du virus, chez M. C... se produit toujours au printemps : toutes les récurrences se sont produites entre le 15 février et le 18 avril. Une fois, l'herpès évolue ailleurs qu'au doigt (cornée gauche); cela survient en décembre. L'influence de la saison est ici trop nette pour qu'on ne le retienne pas.

D'autre part, d'octobre à mai; la salivè de M. C... est presque



toujours virulente. Ce sujet apparaît dès lors comme un porteur de germes (1), capable de disséminer une infection contre laquelle la plupart des humains sont plus ou moins immunisés, mais qui pourra triompher de la résistance insuffisante de quelques-uns (2).

#### CONCLUSIONS.

La localisation singulière de l'herpès chez M. C... semble avoir été en rapport avec l'excitation caryocinétique anormale de la peau de son index droit; cette excitation, manifestée par un épaissement épidermique, était due à un traumatisme chronique.

Les récurrences herpétiques de M. C..., précédées de névralgies durables, l'existence de ces névralgies à l'état isolé en 1923, la production à deux reprises de signes encéphaliques frustes, font de ce cas une forme de transition entre l'herpès cutané et l'encéphalite léthargique.

La souche herpétique M. C... 1922 était peu neurotrope. Celle de 1924, recueillie pendant une période où les signes nerveux de la maladie étaient très accusés, était beaucoup plus encéphalitogène.

Les expériences exécutées avec ces souches mettent en relief une notion importante : les affinités d'un virus exercent une certaine influence sur le type de maladie produit; la nature du terrain expérimental ou humain, exerce, à ce point de vue, une influence sans doute plus grande encore.

Peut-être la suite des événements nous montrera-t-elle le rôle joué par la peau elle-même dans les récurrences, grâce à la greffe de peau saine par laquelle nous avons remplacé les téguments malades.

(1) LEVADITI, HARVIER, NICOLAU. *Ces Annales*, 36, 1922, p. 60.

(2) LEVADITI et NICOLAU. *C. R. Soc. Biol.*, 90, n° 18, p. 1372.



## HÉMOLYSINES NORMALES ET HÉMOLYSINES ARTIFICIELLES

par S. MUTERMILCH.

(Institut Pasteur.)

Les premières observations sur l'agglutination et l'hémolyse des globules rouges par le sérum datent des recherches de Creite et de Landois (1874). Après les travaux classiques de Bordet sur la nature complexe des hémolysines artificielles (sensibilisatrice et alexine), Ehrlich et Morgenroth ont démontré la même nature double des hémolysines normales; les mêmes auteurs ont constaté, en outre, qu'il était possible, dans certains cas, d'obtenir des iso-agglutinines chez la chèvre après lui avoir injecté des hématies d'un autre individu de la même espèce animale.

Un grand nombre d'expérimentateurs ont ensuite étudié les hém-agglutinines normales chez l'homme sain et dans diverses affections. Enfin, en 1901, parut l'important travail de Landsteiner (1), qui a démontré que le sang humain renfermait deux hém-agglutinines et deux groupes sanguins, et qu'on ne trouvait jamais dans le même sérum des agglutinines vis-à-vis de son propre groupe; comme ces propriétés existent dans le sang humain isolément ou associées, on peut distinguer dans le sang humain quatre combinaisons différentes; en effet, pour employer la terminologie de Dungern et Hirszfeld, lorsque les hématies d'un échantillon de sang possèdent le groupe *A*, le sérum correspondant contient des agglutinines *anti-B*; lorsque les hématies possèdent le groupe *B*, le sérum contient des agglutinines *anti-A*; lorsque les hématies possèdent les deux groupes à la fois ( $A + B$ ), le sérum correspondant n'aura de pouvoir agglutinant vis-à-vis d'aucun échantillon de sang humain; enfin, lorsque les hématies ne contiennent ni le groupe *A*, ni le groupe *B*, c'est-à-dire que les hématies ont le groupe *O*, le sérum correspondant agglutinera aussi bien les hématies *A* que les hématies *B*.

(1) *Wiener klin. Woch.*, 46, 1901, p. 1132.



Les expériences de Landsteiner ont été confirmées par un très grand nombre d'auteurs; toutefois, certains d'entre eux signalent la difficulté de caser parfois un échantillon de sang humain dans une des quatre combinaisons de Landsteiner; nous-même, au cours de nos recherches, nous sommes heurté, très rarement, il est vrai, à cette difficulté. Ces exceptions à la loi de Landsteiner s'expliquent, selon toute probabilité, par l'existence de plus de deux groupes sanguins et, en effet, tout récemment trois auteurs américains: Hugh, Guthrie et Pessel (1) ont fait paraître une suite de mémoires, d'où il ressort qu'on peut distinguer chez l'homme quatre et même plus de groupes différents et un très grand nombre de combinaisons biologiques. Il n'est pas impossible d'admettre que le nombre de groupes sanguins puisse être encore plus considérable, et on peut même supposer que des méthodes sérologiques plus sensibles vont permettre, un jour, de distinguer des propriétés biologiques individuelles des hématies.

Des groupes sanguins existent-ils aussi chez les animaux? Les recherches à ce sujet ne sont pas encore très complètes, mais le fait ne paraît pas indéniable, en ce qui concerne certaines espèces animales. Ainsi, il ressort des travaux de Dungen et Hirszfild (2) qu'on peut distinguer chez le chien deux propriétés agglutinables: X et Y qui peuvent, tout comme les groupes sanguins humains, donner lieu à quatre combinaisons biologiques ( $XY$ ,  $X+Y$ , ni X ni Y ou O); fait intéressant, les groupes sanguins, chez le chien, ne paraissent pas avoir de rapport avec les groupes A et B chez l'homme. Toutefois, Brockmann (3), reprenant les recherches de Dungen et Hirszfild, a constaté que les hématies de chien mises en présence des sérums humains, n'absorbent que l'agglutinine anti-B, un seul chien s'étant montré capable d'absorber l'agglutinine anti-A. D'après le même auteur, les hématies de bœuf absorbent toujours l'agglutinine anti-B humaine.

Klein, Wesecky, Panisset, Kraus et Ludwig ont démontré l'existence des isoagglutinines normales chez les chevaux;

(1) *Bull. of the John Hopkins Hosp.*, 34, février 1923, p. 37; mars 1923, p. 80; avril 1923, p. 128; janvier 1924, p. 23; février 1924, p. 33; mars 1924, p. 63.

(2) *Zeitsch. f. Immunitätsf.*, 1910, p. 526.

(3) *Zeitsch. f. Immunitätsf.*, 1911, p. 87.



reprenant ces recherches, Hirszfeld et Przesmycki (1) ont constaté qu'on pouvait distinguer chez les chevaux deux groupes : A et B qui correspondraient aux groupes analogues chez l'homme; toutefois, la présence chez les chevaux des groupes A et B ne s'accompagne pas toujours de la présence des agglutinines anti-A et anti-B, contrairement à ce qu'on observe chez l'homme.

Dungern et Hirszfeld n'ont pas été en état de distinguer des groupes sanguins chez le lapin.

Tout dernièrement, Bialosuknia et Kaczkowski (2) ont décrit trois groupes sanguins chez le mouton : A, B et O; d'après la communication verbale de M. Bialosuknia, ces groupes ne paraissent pas correspondre aux groupes sanguins humains.

En ce qui concerne les hétéro-hémolysines normales, c'est-à-dire les hémolysines normales vis-à-vis des hématies d'une espèce animale étrangère, un nombre considérable de travaux a été publié à ce sujet; pour les détails et la bibliographie nous renvoyons le lecteur à la monographie de H. Sachs sur les hémolysines dans le « Technik und Methodik der Immunitätsforschung » de Kraus et Levaditi.

L'action du sérum normal sur les hématies des diverses espèces animales est due, à peu d'exceptions près, à autant de sensibilisatrices spécifiques (Neisser et Doering et, plus récemment, Brockmann), qui se comportent, au point de vue des lois d'immunité (absorption par les antigènes, thermostabilité, etc.), comme les sensibilisatrices artificielles.

En ce qui concerne, tout spécialement, le pouvoir hémolytique du sérum humain vis-à-vis des hématies du mouton, il ressort des recherches de Weinberg (3) et de Leredde et Rubinstein, que les hémolysines naturelles anti-mouton se trouvent dans la majorité des sérums humains, mais que leur taux est assez variable (de 0 à 29). Pour résumer aussi brièvement que possible, et incomplètement, bien entendu, le vaste sujet des agglutinines et des hémolysines naturelles, on peut admettre :

1° Qu'il existe des iso-agglutinines normales chez certaines

(1) *C. R. Soc. Biol.*, **89**, p. 1360.

(2) *C. R. Soc. Biol.*, **90**, p. 1196.

(3) *Traité du Sang*, **2**, p. 249.



espèces animales (cheval, chien, peut-être mouton), mais que leur étude n'est qu'à ses débuts;

2° Qu'il existe des iso-agglutinines chez l'homme (anti-A, anti-B et d'autres plus rares);

3° Qu'il est possible, dans certains cas, de provoquer la formation des iso-agglutinines artificielles chez certaines espèces animales (Ehrlich et Morgenroth); d'après Dungern et Hirsfeld, cette formation ne peut avoir lieu que lorsqu'on inocule des hématies possédant un certain groupe sanguin à des animaux dont les hématies possèdent le groupe différent;

4° Qu'on trouve chez l'homme et chez les animaux des hétéro-agglutinines et hétéro-hémolysines normales vis-à-vis des hématies d'un très grand nombre d'espèces animales et que, en particulier, le sérum humain contient des hémolysines normales pour les hématies du mouton, dans 95 p. 100 des cas.

..

Un pur hasard nous a orienté vers les recherches sur les agglutinines et les hémolysines normales. Dirigeant, notamment, le service du séro-diagnostic de la syphilis à l'Institut Pasteur, nous avons pris l'habitude de nous servir, pour ces examens, des moutons gardés dans les étables de l'Institut; or, un des moutons étant mort accidentellement, un autre animal fut acquis l'an dernier aux abattoirs de Paris; mais quelle fut notre surprise, lorsque, à la première épreuve, nous nous sommes aperçu que les hématies de ce mouton ne subissaient pas d'hémolyse en présence des sérums humains qui contiennent pourtant, dans 95 p. 100 des cas, des hémolysines naturelles anti-mouton.

Nous nous sommes donc mis à étudier, au point de vue sérologique, ce mouton extraordinaire que nous appellerons dans la suite *mouton X*, pour le distinguer des autres moutons dont les hématies s'hémolysaient normalement par les sérums humains et que nous appellerons *moutons N* (normaux).



# I. — Action hétérolytique des sérums humains vis-à-vis des hématies du mouton normal et du mouton X.

(H. N. = hématies du mouton normal,  
H. X. = hématies du mouton X).

Nous avons éprouvé plusieurs centaines des sérums humains vis-à-vis des H. N. et des H. X., et ces expériences ont montré que 88 p. 100 de sérums humains qui hémolysaient les globules du mouton normal n'exerçaient aucun pouvoir hémolytique sur les hématies du mouton X, et que les 12 p. 100 de sérums restants n'hémolysaient les hématies X qu'à des doses très élevées et, *toujours*, en dilutions beaucoup plus concentrées que les hématies N.

Voici, à titre d'exemple, le protocole d'une de ces nombreuses expériences :

SÉRUM humain actif	GLOBULES de mouton	EAU phys.	HÉMOLYSE					
			H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . .	0,1	0,3	C(1)	0	C	0	C	C
0,1 1/2 . .	0,1	0,3	C	0	C	0	C	tr.
0,1 1/4 . .	0,1	0,3	C	0	C	0	C	0
0,1 1/8 . .	0,1	0,3	C	0	p. c.	0	C	0
0,1 1/16 . .	0,1	0,3	C	0	0	0	p. c.	0
0,1 1/32 . .	0,1	0,3	0	0	0	0	0	0
			1 <sup>o</sup> sérum humain.		2 <sup>o</sup> sérum humain.		3 <sup>o</sup> sérum humain.	

(1) C, hémolyse complète ; p. c., hémolyse presque complète ; part., hémolyse partielle ; tr., trace d'hémolyse ; 0, pas d'hémolyse.

En présence de ce résultat, nous avons procédé à une série de recherches ayant pour but l'explication de ce phénomène étrange, et nous nous sommes demandé, en premier lieu, laquelle des deux substances hémolytiques, de la sensibilisatrice ou de l'alexine, doit être mise en cause de son manque d'action sur les hématies du mouton X.

Deux expériences ont donc été effectuées : dans la première,



nous avons fait agir sur les hématies N, et sur les hématies X, le sérum humain inactivé par le chauffage à 55° et additionné d'alexine de cobaye titrée; dans l'autre, nous avons d'abord fait absorber l'hémolysine normale du sérum humain par les globules du mouton normal et, après centrifugation, nous avons fait agir sur les hématies N et X l'alexine humaine ainsi obtenue additionnée d'une sensibilisatrice artificielle de lapin anti-mouton.

## EXPÉRIENCE I.

SÉRUM humain inactivé	ALEXINE de cobaye au 1/10 <sup>e</sup>	GLOBULES	EAU physiol.	H. N.	H. X.
0,1 . . . . .	0,1	0,1	0,2	C	0
0,1 1/2 . . . . .	0,1	0,1	0,2	C	0
0,1 1/4 . . . . .	0,1	0,1	0,2	C	0
0,1 1/8 . . . . .	0,1	0,1	0,2	C	0
0,1 1/16 . . . . .	0,1	0,1	0,2	p. c.	0
0,1 1/32 . . . . .	0,1	0,1	0,2	0	0

## EXPÉRIENCE II.

5 cent. cubes d'hématies N centrifugées et lavées à l'eau physiologique sont mises en contact pendant quarante-huit heures à la glacière avec 5 cent. cubes de sérum humain frais; on centrifuge et on décante le sérum humain ainsi débarrassé de son hémolysine normale et ne contenant que l'alexine; on met ensuite les hématies N et X en présence des diverses dilutions de l'alexine humaine additionnée d'une sensibilisatrice artificielle de lapin anti-mouton titrée.

ALEXINE humaine	SENSIBILISATRICE du lapin titrée	GLOBULES	EAU physiol.	H. N.	H. X.
0,1 . . . . .	0,1	0,1	0,2	C	C
0,1 1/2 . . . . .	0,1	0,1	0,2	C	C
0,1 1/4 . . . . .	0,1	0,1	0,2	C	C
0,1 1/8 . . . . .	0,1	0,1	0,2	part.	part.
0,1 1/16 . . . . .	0,1	0,1	0,2	0	0
— . . . . .	0,1	0,1	0,2	0	0
0,1 . . . . .	—	0,1	0,3	0	0



Ces deux expériences nous montrent avec toute évidence que, tandis que l'alexine humaine agit au même taux sur les H. N. et les H. X. (exp. 2), la sensibilisatrice humaine normale n'exerce son pouvoir hémolytique que sur les H. N. et reste sans action sur les H. X. (exp. 1).

Les expériences suivantes nous montreront, avec plus de netteté encore, l'incapacité où se trouvent les globules du mouton X de fixer la sensibilisatrice humaine normale :

5 cent. cubes d'hématies du mouton X d'un côté, et 5 cent. cubes d'hématies N, d'un autre côté, centrifugées et lavées à l'eau physiologique sont mis en contact pour quarante-huit heures à la glacière avec 5 cent. cubes de sérum humain frais ; on centrifuge, on décante le sérum et on procède à des épreuves suivantes avec les hématies et le sérum :

## EXPÉRIENCE I.

SÉRUM décanté	HÉMOLYSINE artificielle titrée du lapin anti-mouton	GLOBULES de mouton	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . .	0,1	0,1	C	C	C	C
0,1 1/2 .	0,1	0,1	C	C	C	C
0,1 1/4 .	0,1	0,1	C	C	C	C
0,1 1/8 .	0,1	0,1	C	C	C	C
0,1 1/16 .	0,1	0,1	tr.	tr.	part.	tr.
—	0,1	0,1	0	0	0	0
0,1 . . .	—	0,1	C	0	0	0
0,1 1/2 .	—	0,1	C	0	0	0
0,1 1/4 .	—	0,1	C	0	0	0
0,1 1/8 .	—	0,1	tr.	0	0	0
0,1 1/16 .	—	0,1	0	0	0	0
			Sérum après adsorption par H. X.		Sérum après adsorption par H. N.	

Ces deux expériences nous montrent, une fois de plus, que les hématies X, à l'encontre des hématies N, n'ont fixé qu'une



trace insignifiante de la sensibilisatrice humaine normale; en effet, le sérum décanté, après l'absorption par les hématies X, a conservé son hémolysine normale presque intacte, tandis que celui qui avait subi l'absorption par les hématies N a perdu tout son pouvoir hémolytique; d'un autre côté, les H. N, après absorption, se sont hémolysées en présence de l'alexine du cobaye, tandis que les H. X. n'ont pas subi d'hémolyse.

## EXPÉRIENCE II.

HÉMATIES X ET HÉMATIES N après adsorption suspendues dans 100 cent. cubes d'eau physiol.	ALEXINE de cobaye titrée	EAU physiologique	H. N.	H. X.
0,1 . . . . .	0,1	0,3	C	tr.
0,1. . . . .	0,1 1/2	0,3	C	0
0,1. . . . .	0,1 1/4	0,3	C	0
0,1. . . . .	0,1 1/8	0,3	C	0
0,1. . . . .	0,1 1/16	0,3	part.	0

En présence de l'insensibilité des hématies du mouton X vis-à-vis des hémolysines normales, nous nous sommes demandé comment vont-elles se comporter vis-à-vis des hémolysines artificielles obtenues chez des animaux au moyen d'une immunisation active.

Nous avons examiné, à ce point de vue, plusieurs échantillons de sérums de lapin et de cheval, de provenance diverse.

Voir, à titre d'exemple, le protocole d'une de ces expériences dans le tableau suivant.

D'autres expériences analogues, effectuées avec d'autres échantillons de sérum anti-mouton, nous ayant fourni des résultats identiques, nous sommes en droit de conclure que :

1° *L'affinité des hématies du mouton X vis-à-vis des hémolysines ARTIFICIELLES ne diffère pas de celle des hématies du mouton normal, tandis que leur affinité vis-à-vis des hémolysines humaines NORMALES est nulle ou presque nulle et se distingue, à ce point de vue, des hématies du mouton normal;*

2° *La propriété des globules rouges de fixer les anticorps*



SÉRUM de lapin anti-mouton (3 inoculations intrapéritonéales de 10 cent. cubes de H. N.)	ALEXINE de cobaye au 1/10	GLOBULES de mouton	H. N.	H. X.
0,1 . . . . .	0,1	0,1	C	C
0,1 1/10 . . . . .	0,1	0,1	C	C
0,1 1/50 . . . . .	0,1	0,1	C	C
0,1 1/100 . . . . .	0,1	0,1	C	C
0,1 1/200 . . . . .	0,1	0,1	C	C
0,1 1/400 . . . . .	0,1	0,1	C	C
0,1 1/800 . . . . .	0,1	0,1	C	C
0,1 1/1.600 . . . . .	0,1	0,1	p. c.	p. c.
0,1 1/3.200 . . . . .	0,1	0,1	tr.	tr.
0,1 1/6.400 . . . . .	0,1	0,1	0	0

*artificiels ou, pour parler le langage d'Ehrlich, les récepteurs pour les ambocepteurs artificiels ne sont pas les mêmes que les récepteurs pour les ambocepteurs normaux.*

..

De nombreuses questions se sont alors présentées à notre esprit :

1° Le mouton X est-il une exception, ou peut-on rencontrer de temps à autre des individus de l'espèce ovine doués des mêmes propriétés sanguines que le mouton X?

2° Les hémolysines normales de l'homme sont-elles seules incapables d'agir sur les hématies X, ou est-ce une règle générale pour toutes les hétérolysines normales, de n'importe quelle origine?

3° Existe-t-il des iso-agglutinines normales chez des moutons normaux pour les hématies du mouton X et vice versa?

4° Peut-on mettre en évidence des différences antigènes entre les H. N. et les H. X.?

5° Quelles sont les relations entre les iso-agglutinines humaines de Landsteiner et leur action respective sur les H. N. et les H. X.?

6° Comment expliquer l'origine philogénétique du mouton X?



7° Comment vont se comporter les hématies du mouton X vis-à-vis des hétérolysines artificielles de Forssman?

8° Enfin, le manque de récepteurs pour les sensibilisatrices normales chez le mouton X nous a incité à étudier le problème de la différenciation des hémolysines normales des hémolysines artificielles.

## II. — Action des hémolysines normales de l'homme sur les hématies des divers individus de la race ovine.

Nous avons étudié l'action hémolytique du sérum humain normal vis-à-vis des hématies d'une centaine de moutons, provenant, soit des abattoirs de Paris, soit des élevages de moutons de races pures (voir plus loin). Or, nous n'avons

### EXPÉRIENCE I. — Action du sérum humain sur 12 moutons et le mouton X.

SÉRUM humain inactivé	ALEXINE de cobaye au 1/10	GLOBULES de mouton	EAU physiol.	MOUTON 1	MOUTON 2	MOUTON 3	MOUTON 4	MOUTON 5	MOUTON 6	MOUTON 7
0,1 . . . .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	C	C
0,1 1/2 . .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	p. c.	C
0,1 1/4 . .	0,1	0,1	0,2	C	C	p. c.	p. c.	p. c.	tr.	C
0,1 1/8 . .	0,1	0,1	0,2	part.	tr.	tr.	tr.	tr.	0	tr.
0,1 1/16 . .	0,1	0,1	0,2	tr.	0	0	0	0	0	0
0,1 1/32 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	0	0	0
SÉRUM humain inactivé	ALEXINE de cobaye au 1/10	GLOBULES de mouton	EAU physiol.	MOUTON 8	MOUTON 9	MOUTON 10	MOUTON 11	MOUTON 12	H. N.	
0,1 . . . .	0,1	0,1	0,2	C	C	p. c.	C	C	0	
0,1 1/2 . .	0,1	0,1	0,2	C	C	part.	C	C	0	
0,1 1/4 . .	0,1	0,1	0,2	part.	C	0	part.	p. c.	0	
0,1 1/8 . .	0,1	0,1	0,2	0	part.	0	0	tr.	0	
0,1 1/16 . .	0,1	0,1	0,2	0	tr.	0	0	0	0	
0,1 1/32 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	0	0	

jamais rencontré d'individu analogue au mouton X; toutefois,



ces recherches nous ont permis de faire une constatation intéressante et notamment que, tandis que les divers échantillons de sang de mouton se comportaient identiquement, lorsqu'on les soumettait à l'action des hémolysines artificielles, leur sensibilité vis-à-vis des hémolysines humaines normales variaient, dans certaines limites, d'un individu à l'autre, n'allant toutefois jamais jusqu'à l'insensibilité complète des hématies du mouton X.

Voir l'exemple de l'action d'un sérum humain et d'un sérum du lapin anti-mouton sur 13 moutons différents dans les tableaux des pages 4011 et 4012.

### EXPÉRIENCE II.

*Action des hémolysines artificielles (lapin anti-mouton),  
sur les hématies des mêmes 13 moutons.*

SÉRUM lapin immunisé	ALEXINE de cobaye	GLOBULES	EAU physiol.	MOUTON 1	MOUTON 2	MOUTON 3	MOUTON 4	MOUTON 5	MOUTON 6	MOUTON 7
0,1 1/10. .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	C	C
0,1 1/50. .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	C	C
0,1 1/100. .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	C	C
0,1 1/500. .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	C	C
0,1 1/800. .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	C	C
0,1 1/1.600	0,1	0,1	0,2	p. c.	p. c.	p. c.	p. c.	p. c.	p. c.	p. c.
0,1 1/3.200	0,1	0,1	0,2	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
0,1 1/6.400	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	0	0	0

SÉRUM lapin immunisé	ALEXINE de cobaye	GLOBULES	EAU physiol.	MOUTON 8	MOUTON 9	MOUTON 10	MOUTON 11	MOUTON 12	H. X.	
0,1 1/10. .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	C	
0,1 1/50. .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	C	
0,1 1/100. .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	C	
0,1 1/500. .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	C	
0,1 1/800. .	0,1	0,1	0,2	C	C	C	C	C	C	
0,1 1/1.600	0,1	0,1	0,2	p. c.	p. c.	p. c.	p. c.	p. c.	p. c.	
0,1 1/3.200	0,1	0,1	0,2	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	
0,1 1/6.400	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	0	0	

Il résulte de ces expériences que les récepteurs pour les



*anticorps normaux sont non seulement différents de ceux qui fixent les anticorps artificiels, mais que, à l'encontre de ces derniers, ils se trouvent en quantités variables dans les hématies de divers individus de la même espèce animale. Donc, lorsqu'on parle d'un index hémolytique (Weinberg) d'un sérum humain vis-à-vis des hématies du mouton, le chiffre obtenu n'est valable que pour le mouton ayant servi à la détermination de l'index, et il sera tout différent, lorsqu'on s'adressera à d'autres individus de l'espèce ovine.*

### III. — Action des hétérolysines normales d'origine animale sur les hématies du mouton normal et du mouton X.

En présence de l'insensibilité quasi absolue des hématies du mouton X vis-à-vis des hémolysines normales d'origine

SÉRUM de lapin	ALEXINE de cobaye titrée	GLOBULES	EAU physiol.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . .	0,1	0,1	0,2	C	p. c.	C	p. c.	C	0
0,1 1/2 . .	0,1	0,1	0,2	C	0	C	tr.	C	0
0,1 1/4 . .	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0	C	0
0,1 1/8 . .	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0	C	0
0,1 1/16 . .	0,1	0,1	0,2	p. c.	0	C	0	C	0
0,1 1/32 . .	0,1	0,1	0,2	part.	0	p. c.	0	p. c.	0
				Sérum lapin I.		Sérum lapin II.		Sérum lapin III.	
SÉRUM de lapin	ALEXINE de cobaye titrée	GLOBULES	EAU physiol.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . .	0,1	0,1	0,2	C	0	C	p. c.	C	C
0,1 1/2 . .	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0	C	p. c.
0,1 1/4 . .	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0	C	0
0,1 1/8 . .	0,1	0,1	0,2	C	0	p. c.	0	C	0
0,1 1/16 . .	0,1	0,1	0,2	tr.	0	0	0	C	0
0,1 1/32 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	p. c.	0
				Sérum lapin IV.		Sérum lapin V.		Sérum lapin VI.	



humaine, nous nous sommes demandé comment vont elles se comporter vis-à-vis des hémolysines normales contenues dans les sérums des diverses espèces animales. En nous adressant tout d'abord au lapin qui contient, en général, des hémolysines normales anti-mouton, nous avons prélevé, à un grand nombre de ces animaux, un peu de sang à la veine marginale de l'oreille; après coagulation, le sérum a été décanté, inactivé et essayé vis-à-vis des hématies N et X, en présence de l'alexine de cobaye titrée.

Voir, à titre d'exemple, une de ces expériences dans le tableau précédent. Un résultat analogue a été obtenu avec les sérums normaux du rat et du bœuf.

#### EXPÉRIENCE AVEC LES SÉRUMS DES RATS.

On prélève à 6 rats normaux, par ponction cardiaque, un peu de sang qu'on laisse coaguler; le sérum est décanté, inactivé et additionné d'alexine de cobaye titrée :

SÉRUM du rat	ALEXINE titrée	GLOBULES	EAU physiol.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . .	0,1	0,1	0,2	C	p. c.	C	p. c.	C	0
0,1 1/2 . .	0,1	0,1	0,2	C	0	C	tr.	C	0
0,1 1/4 . .	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0	p. c.	0
0,1 1/8 . .	0,1	0,1	0,2	part.	0	C	0	0	0
0,1 1/16 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	C	0	0	0
0,1 1/32 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	p. c.	0	0	0
				Rat I.		Rat II.		Rat III.	
SÉRUM du rat	ALEXINE titrée	GLOBULES	EAU physiol.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . .	0,1	0,1	0,2	C	0	C	C	part.	0
0,1 1/2 . .	0,1	0,1	0,2	C	0	C	C	tr.	0
0,1 1/4 . .	0,1	0,1	0,2	C	0	C	part.	0	0
0,1 1/8 . .	0,1	0,1	0,2	p. c.	0	C	0	0	0
0,1 1/16 . .	0,1	0,1	0,2	tr.	0	part.	0	0	0
0,1 1/32 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	0	0
				Rat IV.		Rat V.		Rat VI.	



## EXPÉRIENCE AVEC LES SÉRUMS DU BŒUF.

6 échantillons de sérums de bœuf, pris au hasard à l'abattoir, sont essayés vis-à-vis des H. N. et des H. X. :

SÉRUM du bœuf	ALEXINE de cobaye	GLOBULES	EAU physiol.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . .	0,1	0,1	0,2	0	0	part.	0	C	C
0,1 1/2 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	tr.	0	C	C
0,1 1/4 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	C	tr
0,1 1/8 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	part.	0
0,1 1/16 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	tr.	0
0,1 1/32 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	0	0
				Bœuf I.		Bœuf II.		Bœuf III.	
SÉRUM du bœuf	ALEXINE de cobaye	GLOBULES	EAU physiol.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . .	0,1	0,1	0,2	0	0	C	0	C	0
0,1 1/2 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	p. c.	0	C	0
0,1 1/4 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	tr.	0	p. c.	0
0,1 1/8 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	part.	0
0,1 1/16 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	tr.	0
0,1 1/32 . .	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0	0	0
				Bœuf IV.		Bœuf V.		Bœuf VI.	

Ces expériences montrent que les sérums normaux du lapin, du rat et du bœuf hémolysent, dans la majorité des cas, les globules rouges du mouton normal, tandis que leur action sur les globules du mouton X est nulle ou, tout au moins, plus faible que sur les globules du mouton normal.

*L'insensibilité des hématies du mouton X vis-à-vis des hémolysines normales n'est donc pas limitée au seul sérum humain, mais s'étend aussi à diverses espèces animales, telles que le lapin, le rat et le bœuf.*



IV. — Relations entre le pouvoir hémolytique des sérums humains vis-à-vis des globules rouges du mouton normal et du mouton X, et le pouvoir iso agglutinant des mêmes sérums.

Les expériences précédentes ont montré que, tandis que le pouvoir hémolytique de la majorité des sérums humains (88 p. 100) vis-à-vis des hématies du mouton X était nul, 12 p. 100 de sérums humains se sont montrés capables d'hémolyser les mêmes hématies, toutefois à des concentrations beaucoup plus élevées que pour les hématies du mouton normal.

Nous nous sommes donc demandé, ayant présentes à la mémoire les belles recherches de Landsteiner sur les groupes sanguins chez l'homme, et celles de Hirszfeld sur les relations entre les groupes sanguins de certaines espèces animales (cheval) avec les groupes sanguins humains, si les réactions d'hémolyse positives qu'on obtient parfois avec certains, peu nombreux, sérums humains, pour les hématies X, ne dépendaient pas de la présence dans ces sérums d'une telle ou telle autre combinaison sanguine chez l'homme.

TECHNIQUE. — On prélève un peu de sang, par ponction veineuse, à un groupe de 15 à 20 personnes; une partie de ce sang est reçue dans l'eau physiologique citratée, l'autre est abandonnée à la coagulation pour obtenir du sérum; la première portion est centrifugée, et les hématies lavées une fois et suspendues dans de l'eau physiologique; on mélange ensuite dans une série de tubes, 0 c. c. 5 de sérum de chaque individu avec 0 c. c. 5 de suspension globulaire de tous les autres individus; les mélanges sont mis à l'étuve pour une ou deux heures, et la lecture des résultats se fait immédiatement et trois ou quatre heures après un séjour à la température du laboratoire. D'autre part, étant en possession des sérums anti-A et anti-B, nous avons déterminé les groupes sanguins chez un grand nombre de personnes à l'aide de ces deux sérums connus.

Après avoir déterminé les groupes sanguins chez 100 personnes environ, nous avons essayé leurs sérums vis-à-vis des



hématies du mouton normal et du mouton X; or, nous croyons inutile de citer ici les protocoles de ces expériences, car, toutes, elles ont montré qu'il n'existe aucune relation entre la présence d'une telle ou telle autre combinaison dans le sang humain (A, B,  $A + B$ , ni A ni B) et le pouvoir hémolytique du sérum vis-à-vis des hématies du mouton normal et du mouton X.

## V. — Le problème des groupes sanguins chez le mouton.

Dans un des chapitres précédents, nous avons émis l'hypothèse que l'insensibilité des hématies du mouton X vis-à-vis des hémolysines normales ne peut s'expliquer que par l'absence des « récepteurs » pour les anticorps normaux; mais cette propriété négative est-elle la seule qui distingue le sang X du sang de tous les autres moutons, ou bien, les hématies X ne possèdent-elles pas certaines propriétés positives, une certaine structure biochimique spéciale et différente de celle des hématies des moutons normaux? Nous nous sommes proposé de résoudre cette question par l'étude des groupes sanguins chez le mouton, d'autant plus que, tout dernièrement, Bialosuknia et Kaczkowski ont fait paraître une note, où ils affirment avoir constaté, chez les moutons de Pologne, 3 groupes sanguins : A, B et O.

Nous avons examiné, au point de vue des iso-agglutinines, une centaine de moutons environ, à l'aide d'une technique analogue à celle employée pour déterminer les groupes sanguins chez l'homme, et en groupant ces animaux par 12 à 18 individus à la fois; à chaque expérience, les sérums des moutons non encore examinés ont été éprouvés vis-à-vis des hématies X, et le sérum du mouton X vis-à-vis des hématies de tous les autres moutons. Sur les 90 moutons examinés, 47 appartenaient à des races inconnues, le sang ayant été prélevé aux abattoirs, tandis que les 43 autres moutons appartenaient à 17 races pures de France et de ses colonies, et dont nous donnerons une description détaillée dans un des chapitres suivants.

Les résultats de ces expériences furent constamment négatifs, c'est-à-dire que, même en nous adressant à des moutons de



races pures, bien sélectionnées, présentant souvent des différences anatomiques frappantes, ainsi qu'à des moutons demi-sauvages, comme, par exemple, les moutons du Sénégal, de la boucle du Niger, de l'Afrique occidentale française, nous n'avons jamais observé de phénomènes d'iso-agglutination; nos résultats sont donc en contradiction avec ceux de Bialosuknia et Kaczkowski, cités plus haut : faut-il attribuer cette discordance à des différences d'ordre technique, les auteurs polonais ayant procédé à l'agglutination à froid, ou bien faut-il admettre que les moutons de Pologne se comportent différemment des moutons de France, nous ne saurions pour le moment répondre à cette question.

Les hématies du mouton X ne paraissent donc pas posséder de groupe sanguin spécial pouvant être mis en évidence par la réaction d'iso-agglutination normale. Toutefois, l'expérience suivante montre que les hématies X se distinguent, au point de vue de leur structure antigène, des hématies des moutons normaux; en effet, Ehrlich et Morgenroth ayant démontré la possibilité d'obtenir des iso-agglutinines artificielles chez la chèvre, et Dungern et Hirszfeld ayant déterminé les relations qui existent entre les groupes sanguins et la formation de ces iso-anticorps, nous avons procédé à l'immunisation d'un mouton normal avec les hématies du mouton X, et du mouton X avec les hématies du mouton normal.

#### EXPÉRIENCE.

On prélève, à la veine jugulaire d'un mouton normal, 10 cent. cubes de sang qu'on délibrine, centrifuge et lave une fois à l'eau physiologique; le dépôt globulaire est inoculé sous la peau du

#### *Expérience d'agglutination.*

SÉRUM du mouton	GLOBULES de mouton	SÉRUM mouton N. + H. X.	SÉRUM mouton X + H. N. avant l'immunisation	SÉRUM mouton X + H. N. après l'immunisation
0,5	0,5	0	0	+++



*Expérience d'hémolyse.*

SÉRUM mouton X	ALEXINE titrée	H. N.	EAU physiol.	AVANT l'immunisation	APRÈS l'immunisation
0,1 . . . . .	0,1	0,1	0,2	0	C
0,1 1/2 . . . .	0,1	0,1	0,2	0	C
0,1 1/4 . . . .	0,1	0,1	0,2	0	C
0,1 1/8 . . . .	0,1	0,1	0,2	0	C
0,1 1/16 . . . .	0,1	0,1	0,2	0	C
0,1 1/32 . . . .	0,1	0,1	0,2	0	tr.

flanc du mouton X; on fait, en tout, 7 inoculations consécutives, à intervalles de trois à quatre jours. On éprouve le sérum du mouton X, vis-à-vis des hématies normales, dix jours après la dernière immunisation.

L'expérience inverse, c'est-à-dire l'immunisation du mouton normal avec les hématies du mouton X, ayant fourni un résultat analogue, nous sommes en droit de conclure que : *les hématies X se distinguent des hématies de tous les autres moutons, non seulement par l'absence des « récepteurs » pour les anticorps normaux, mais aussi par une structure biochimique différente et pouvant être mise en évidence par l'action des iso-agglutinines artificielles.*

Ajoutons que l'immunisation des lapins avec les H. X. et les H. N. et l'absorption ultérieure avec les unes ou les autres, n'a montré aucune différence antigène entre ces deux sangs, ce qui est en accord avec les expériences négatives des divers auteurs tendant à obtenir, chez le lapin, des sérums spécifiques dirigés contre des groupes sanguins humains.

## VI. Etude du phénomène de Forssman.

Le hasard nous ayant ainsi mis entre nos mains un antigène (hématies X) insensible envers les anticorps normaux et fixant normalement les anticorps artificiels obtenus par l'immunisation active, nous avons cru intéressant d'aborder le problème encore obscur de l'identité des anticorps normaux avec les anticorps artificiels hétérologues et homologues.



L'existence des anticorps artificiels hétérologues avait déjà été signalée en 1904 par Ballner et Sagasser (1) et Cattarine R. Collins (2) qui avaient obtenu des agglutinines antityphiques et antidysentériques chez des lapins, en leur inoculant certaines espèces de levures. En 1907 et 1911, Frouin (3) et Frouin et Lisbonne (4) ont obtenu des hémolysines hétérologues anti-chien chez le lapin, en lui inoculant des lipoïdes extraits de l'œuf et de l'huile d'œuf. Enfin, en 1911 également, parut le remarquable travail de Forssman (5), sur le même sujet. Cet auteur a obtenu, notamment, chez le lapin, des hémolysines anti-mouton extrêmement actives, en lui administrant dans le péritoine des extraits du rein de cobaye. D'après Forssman, les reins du cheval, du chien, du chat et de la poule se comportent comme le rein du cobaye; par contre, les organes du lapin, du bœuf, du rat et de l'homme ne sont doués d'aucun pouvoir antigène hétérologue. Sans entrer dans les détails de la belle étude de Forssman, nous ne nous arrêterons qu'un instant sur ses expériences concernant les relations entre l'hémolysine hétérologue avec les hémolysines artificielles anti-mouton ordinaires d'un côté et les hémolysines anti-mouton normales de l'autre. Cet auteur a constaté tout d'abord que la sensibilisation des hématies du mouton avec une hémolysine hétérologue les empêchait de fixer ensuite des hémolysines artificielles homologues, et, vice versa, une sensibilisation préalable avec les hémolysines homologues empêchait la fixation des hémolysines hétérologues; il conclut donc à l'identité des récepteurs des globules rouges pour ces deux groupes d'anticorps (comme on le verra plus loin, nos expériences à ce sujet nous ont conduit à des résultats tout à fait opposés, et nous serons en état de donner l'explication de cette discordance). D'autre part, l' a constaté que les extraits du rein de cobaye étaient capables d'adsorber aussi bien les hétérolysines que les hémolysines normales du lapin, tandis que leur pouvoir fixateur vis-à-vis des hémolysines artificielles homologues s'est montré nul. L'auteur fut ainsi amené à la conception que

(1) *Archiv f. Hygiene*, **51**, 1904.

(2) *Journ. of. Exp. Med.*, **10**, 1908.

(3) *C. R. Soc. Biol.*, **62**, 1907.

(4) *C. R. Soc. Biol.*, **70**, 1911.

(5) *Bioch. Zeitschr.*, **37**, p. 78.



les hémolysines normales, à l'encontre des hémolysines artificielles homologues, possèdent deux « groupes haptotores » dont l'un, ayant l'affinité pour les hématies du mouton, et l'autre pour les cellules d'organes de cobaye. Malgré la découverte de cette propriété commune à l'hétéro-hémolysine et l'hémolysine normale, F. crut plus prudent de ne pas admettre leur identité absolue.

Or nos expériences, dont la description suit, ont montré que les hétéro-hémolysines de Forssman se comportent vis-à-vis des hématies du mouton X et, en général, vis-à-vis des hématies de tous les moutons, exactement comme les hémolysines normales.

#### EXPÉRIENCE I.

On prélève, à la veine marginale de deux lapins (n<sup>os</sup> 73 et 74) un peu de sang, dont les sérums sont inactivés et gardés à la glacière. On sacrifie ensuite un cobaye, on lui prélève aseptiquement les deux reins qu'on triture dans un mortier, on les additionne d'eau physiologique et on laisse déposer; le liquide surnageant est inoculé dans le péritoine des lapins 73 et 74; on répète ces inoculations, à huit jours d'intervalle, à trois reprises. Huit jours après la dernière inoculation, on saigne les deux lapins à blanc, on décante et on inactive les sérums, et on essaie leur pouvoir hémolytique vis-à-vis des hématies du mouton normal et du mouton X.

Cette expérience a montré qu'un sérum de lapin (par exemple celui du n<sup>o</sup> 74) qui, avant l'immunisation avec l'extrait du rein de cobaye, hémolysait les globules du mouton normal à la dilution de 1:15 environ et n'hémolysait pas du tout les globules rouges du mouton X, s'est montré capable, après trois inoculations de l'extrait du rein de cobaye, d'hémolyser les hématies normales à la dilution de 1:1.000 environ, tandis que son pouvoir hémolytique vis-à-vis des hématies X n'a pas bougé et est resté nul et tel qu'il avait été avant l'immunisation.

Les hémolysines normales n'agissent donc sur les hématies X, non pas à cause de leur faible pouvoir hémolytique, comme on aurait pu supposer, mais bien à cause de l'absence des récepteurs pour les anticorps normaux, car le sérum hétéroly-



SÉRUM du lapin	ALEXINE de cobaye titrée	GLOBULES de mouton	EAU physiol.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1	0,1	0,1	0,2	C	p. c.	C	0
0,1 1/5	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0
0,1 1/10	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0
0,1 1/20	0,1	0,1	0,2	C	0	part.	0
0,1 1/40	0,1	0,1	0,2	tr.	0	0	0
0,1 1/80	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0
0,1 1/160	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0
0,1 1/320	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0
0,1 1/640	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0
0,1 1/1.280	0,1	0,1	0,2	0	0	0	0
				Lapin 73 avant immunisation.		Lapin 74 avant immunisation.	
SÉRUM du lapin	ALEXINE de cobaye titrée	GLOBULES de mouton	EAU physiol.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1	0,1	0,1	0,2	C	C	C	0
0,1 1/5	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0
0,1 1/10	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0
0,1 1/20	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0
0,1 1/40	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0
0,1 1/80	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0
0,1 1/160	0,1	0,1	0,2	C	0	C	0
0,1 1/320	0,1	0,1	0,2	tr.	0	C	0
0,1 1/640	0,1	0,1	0,2	0	0	C	0
0,1 1/1.280	0,1	0,1	0,2	0	0	tr.	0
				Lapin 73 après immunisation.		Lapin 74 après immunisation.	

tique très actif (au 1/1.000) est, tout comme les hémolysines normales, dénué de tout pouvoir hémolytique vis-à-vis de ces hématies.

## EXPÉRIENCE II.

On essaie l'action hémolytique du sérum du lapin 74 (sérum de Forssman) sur dix échantillons de sang de mouton.



SÉRUM FORSSMAN	MOUTON I	MOUTON II	MOUTON III	MOUTON IV	MOUTON V	MOUTON VI	MOUTON VII	MOUTON VIII	MOUTON IX	MOUTON X
0,1. . . . .	C	C	C	C	C	C	C	C	C	0
0,1 1/10 . . . .	C	C	C	C	C	C	C	C	C	0
0,1 1/100. . . .	p. c.	C	C	C	C	C	C	C	C	0
0,1 1/200. . . .	part.	p. c.	C	C	C	C	p. c.	C	C	0
0,1 1/400. . . .	tr.	part.	C	p. c.	C	C	tr.	tr.	p. c.	0
0,1 1/800. . . .	0	0	p. c.	0	p. c.	p. c.	0	0	part.	0

Cette expérience montre une analogie frappante entre l'action hémolytique des hémolysines normales et des hétéro-hémolysines artificielles; en effet, tandis que les hémolysines artificielles homologues agissent *au même titre* sur les hématies de divers moutons, les hémolysines de Forssman hémolysent les divers échantillons de sang à des taux variables (du 1/400 au 1/800), tout comme les hémolysines normales; donc, nous nous rendons, encore une fois, compte du fait déjà énoncé dans un des chapitres précédents, que *tandis que les récepteurs pour les anticorps artificiels se trouvent chez divers individus de la même espèce animale en nombre sensiblement égal, les récepteurs pour les anticorps normaux s'y trouvent en quantités variables et peuvent même aller jusqu'à l'absence totale de ces récepteurs (mouton X).*

Cette constatation n'est pas dénuée d'intérêt pratique, car il est évident qu'il est dangereux de se servir d'une hémolysine hétérologue, pour la réaction classique de Wassermann par exemple, sans éprouver auparavant chaque fois son pouvoir hémolytique vis-à-vis des globules de mouton, car son titre hémolytique variera selon l'animal employé.

\* .

Nous avons vu que l'action hémolytique des sérums normaux du lapin, du bœuf et du rat vis-à-vis des hématies du mouton X, était identique à celle du sérum humain normal. Ces trois espèces animales appartenant au type dont les organes



sont incapables de provoquer la formation des hétéro-hémolysines anti-mouton, nous nous sommes demandé quel sera le pouvoir hémolytique envers les mêmes hématies, du sérum du cobaye, du cheval, du chien et de la poule (animaux du type « cobaye »).

Voici les protocoles des expériences à ce sujet :

a) ACTION HÉMOLYTIQUE DU SÉRUM DE COBAYE VIS-A-VIS DES  
HÉMATIES DU MOUTON NORMAL ET DU MOUTON X.

On saigne six cobayes normaux, on inactive leurs sérums et on les additionne d'alexine de cobaye au 1/15.

SÉRUM de cobaye	ALEXINE	GLOBULES de mouton	EAU physiol.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . .	0,1	0,1	0,2	C	C	0	0	C	C
0,1 1/2 . .	0,1	0,1	0,2	C	C	0	0	C	C
0,1 1/4 . .	0,1	0,1	0,2	p. c.	C	0	0	C	C
0,1 1/8 . .	0,1	0,1	0,2	part.	C	0	0	p. c.	C
0,1 1/16 . .	0,1	0,1	0,2	tr.	C	0	0	part.	C
				Cobaye I.		Cobaye II.		Cobaye III.	
SÉRUM de cobaye	ALEXINE	GLOBULES de mouton	EAU physiol.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . .	0,1	0,1	0,2	C	C	p. c.	C	0	0
0,1 1/2 . .	0,1	0,1	0,2	C	C	p. c.	C	0	0
0,1 1/4 . .	0,1	0,1	0,2	p. c.	C	tr.	C	0	0
0,1 1/8 . .	0,1	0,1	0,2	0	C	0	p. c.	0	0
0,1 1/16 . .	0,1	0,1	0,2	0	p. c.	0	part.	0	0
				Cobaye IV.		Cobaye V.		Cobaye VI.	



## b) ACTION HÉMOLYTIQUE DU SÉRUM DE CHEVAL NORMAL.

Même disposition.

	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . . .	0	C	0	C	0	0	0	0	tr.	C	part.	C
0,1 1/2 . . . . .	0	C	0	p. c.	0	0	0	0	tr.	C	part.	C
0,1 1/4 . . . . .	0	C	0	part.	0	0	0	0	0	C	tr.	p. c.
0,1 1/8 . . . . .	0	p. c.	0	0	0	0	0	0	0	p. c.	0	part.
0,1 1/16 . . . . .	0	tr.	0	0	0	0	0	0	0	part.	0	tr.
	Cheval I.		Cheval II.		Cheval III.		Cheval IV.		Cheval V.		Cheval VI.	

## c) ACTION HÉMOLYTIQUE DU SÉRUM DE CHIEN NORMAL.

Même disposition.

	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . . .	C	C	C	C
0,1 1/2 . . . . .	p. c.	C	C	C
0,1 1/4 . . . . .	part.	C	p. c.	C
0,1 1/8 . . . . .	0	p. c.	0	C
0,1 1/16 . . . . .	0	tr.	0	p. c.
0,1 1/32 . . . . .	0	0	0	part.
	Chien I.		Chien II.	

d) L'action hémolytique du sérum de six poules s'est montrée nulle vis-à-vis des H. N. et H. X.

Cette série d'expériences montre que, tandis que les sérums des animaux du type « lapin », dont les organes ne déterminent pas la formation des hétérolysines, sont dénués de toute action vis-à-vis des hématies du mouton X, les sérums des animaux du type « cobaye », dont les organes, au contraire, déterminent la formation de ces substances, sont beaucoup plus actifs vis-à-vis des hématies du mouton X que vis-à-vis du sang du mouton normal.



En présence de ce fait, nous avons décidé d'immuniser les animaux avec les extraits du rein des animaux du type « lapin » en espérant d'obtenir ainsi les hétéro-hémolysines pour les hématies du mouton X.

Nous nous sommes tout d'abord adressé aux cobayes que nous avons essayé d'immuniser avec les extraits du rein du lapin et du rat; or, ces expériences n'ont abouti à aucun résultat, car les extraits d'organes se sont montrés extrêmement toxiques pour ces animaux, dont la majorité ont péri au cours de ces vaccinations; un seul cobaye (sur trente) que nous avons pu conserver pendant plusieurs semaines et qui a reçu trois inoculations successives du rein de lapin, n'a d'ailleurs montré aucun changement appréciable dans l'activité de son sérum. Par contre, nous avons obtenu un résultat fort intéressant, en nous adressant au lapin. Voici la description d'une de ces expériences :

Les lapins n<sup>os</sup> 91 et 97 reçoivent trois inoculations successives, à huit jours d'intervalle, de l'extrait du rein de bœuf; les lapins n<sup>os</sup> 98 et 99 reçoivent le même nombre d'inoculations de l'extrait du rein de rat; huit jours après la dernière inoculation, on saigne ces quatre lapins, on inactive leurs sérums et on essaie leur pouvoir hémolytique envers le sang du mouton normal et celui du mouton X, en le comparant à l'action hémolytique des échantillons de sang prélevés avant l'immunisation et gardés jusqu'au moment de l'épreuve, à la glacière.

#### EXPÉRIENCE D'HÉMOLYSE.

Même disposition que dans les expériences précédentes.

Cette expérience montre que les deux lapins (91 et 97) qui avaient reçu de l'extrait du rein de bœuf, et dont les sérums, avant l'immunisation, n'hémolysaient pas du tout le sang du mouton X, ont acquis le pouvoir d'hémolyser ce sang à un titre plus élevé que le sang du mouton normal; un des deux lapins (n<sup>o</sup> 98) immunisés avec de l'extrait du rein de rat a formé également des hétéro-hémolysines pour les hématies X, actives au titre de 1:160.

Ces expériences sur les hétéro-hémolysines artificielles nous obligent à modifier un peu la conception de Forssman : au lieu



SÉRUM du lapin	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . . .	C	0	C	C	C	0	C	C
0,1 1/5 . . . .	p. c.	0	C	C	C	0	C	C
0,1 1/10 . . . .	0	0	C	C	C	0	C	C
0,1 1/20 . . . .	0	0	tr.	C	part.	0	part.	C
0,1 1/40 . . . .	0	0	0	C	0	0	0	part.
0,1 1/80 . . . .	0	0	0	part.	0	0	0	0
0,1 1/160 . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lapin 91 avant l'immunisat.		Lapin 91 après l'immunisat.		Lapin 97 avant l'immunisat.		Lapin 97 après l'immunisat.	
SÉRUM du lapin	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . . .	C	C	C	C	0	0	0	0
0,1 1/5 . . . .	C	C	C	C	0	0	0	0
0,1 1/10 . . . .	C	part.	C	C	0	0	0	0
0,1 1/20 . . . .	C	0	C	C	0	0	0	0
0,1 1/40 . . . .	part.	0	C	C	0	0	0	0
0,1 1/80 . . . .	0	0	0	C	0	0	0	0
0,1 1/160 . . . .	0	0	0	p. c.	0	0	0	0
	Lapin 98 avant l'immunisat.		Lapin 98 après l'immunisat.		Lapin 99 avant l'immunisat.		Lapin 99 après l'immunisat.	

de dire, comme avait fait cet auteur, que les extraits des organes des animaux du type « cobaye » déterminaient toujours la formation des hétérolysines pour le sang de mouton et que les extraits des organes des animaux du type « lapin » étaient dénués de tout pouvoir hétérogène, il serait plus exact de dire que cette conception se confirme pour la majorité des individus de la race ovine, mais que certains d'entre eux (mouton X) se comportent à ce point de vue d'une manière diamétralement opposée à celle de leurs congénères.

Il nous est impossible de donner une interprétation plausible de ce phénomène; toutefois, le raisonnement schématique suivant facilitera sa compréhension.

On peut supposer, notamment, que les cellules des organes



des animaux du type « cobaye » contiennent une certaine propriété, un certain « groupe A », qui se trouve en même temps dans les hématies d'un grand nombre d'individus de la race ovine, et que les cellules des organes des animaux du type « lapin » sont douées d'une autre propriété que nous appellerons « groupe B », et qui est également présente dans les hématies de quelques rares moutons, tels que notre mouton X. Les sérums des animaux du type « cobaye » ne peuvent pas contenir d'anticorps dirigés contre leurs propres cellules; ils ne peuvent donc pas contenir d'« anti-A », mais rien ne les empêche de posséder l'anticorps « anti-B » et, en effet, nous avons vu que leurs sérums agissent d'une manière beaucoup plus intense sur les hématies X que sur les hématies normales. L'immunisation des animaux avec les organes contenant soit le groupe A, soit le groupe B, aura pour effet la formation des anticorps anti-A et anti-B, ce que nos expériences relatées ci-dessus ont pleinement confirmé. Cette interprétation nous permet aussi d'expliquer l'effet toxique des organes du rat et du bœuf sur les cobayes; en effet, tandis que ces organes contiennent le « groupe B », le sérum du cobaye renferme l'anticorps « anti-B »; donc, en inoculant l'extrait du rein du rat ou du bœuf à un cobaye, on assiste à la rencontre d'un antigène avec l'anticorps correspondant, ce qui doit fatalement conduire à un « choc anaphylactique » que nous avons, en effet, souvent observé chez les cobayes soumis à l'immunisation.

Toutes ces expériences nous rendent plus facile la compréhension du mouton X; elles montrent, en effet, *que cet animal se distingue des autres individus de la même espèce animale par le manque presque absolu de récepteurs pour les anticorps normaux des animaux du type « lapin » (lapin, rat, bœuf et homme). Par contre, les hématies de ce mouton contiennent des récepteurs pour les anticorps normaux des animaux du type « cobaye » (cobaye, cheval, chien), quoique leur nombre paraisse être peu élevé.*

Les expériences de Forssman et les nôtres ont montré qu'on était en droit de considérer les hétéro-hémolysines artificielles comme identiques aux hémolysines normales; nous ignorons absolument le mécanisme de la formation des anticorps normaux; toutefois, on peut admettre que certaines



cellules de l'organisme (leucocytes ?) les sécrètent à l'état normal, car on sait, en ce qui concerne les hémolysines antimouton normales de l'homme, par exemple, que ces substances sont, en général, absentes dans le sang des nouveau-nés et n'apparaissent qu'un peu plus tard.

Il est donc à présumer que l'injection d'un antigène hétérologue n'ait pour effet que la stimulation des cellules habituées à sécréter les anticorps à l'état normal. Si cette hypothèse est vraie, si elle se confirme aussi pour les anticorps antimicrobiens et antitoxiques, on saisira mieux le mécanisme de l'action bienfaisante de la protéinothérapie non spécifique ; nous nous proposons d'aborder prochainement l'étude de ce problème.

## VII. — Hémolysines normales et hémolysines artificielles homologues.

Les sérums d'un grand nombre d'animaux contiennent des hémolysines normales pour les hématies de diverses espèces animales ; d'un autre côté, l'immunisation active des animaux avec les hématies étrangères conduit à la formation des hémolysines artificielles homologues ; la question s'est donc posée, depuis le début de nos connaissances sur l'immunité, de l'identité de ces deux groupes d'anticorps.

Malgré que les anticorps normaux obéissent aux mêmes lois que les anticorps artificiels (nature complexe, spécificité, absorption par les antigènes, etc...), on s'est aperçu depuis bien longtemps de quelques différences d'ordre secondaire. Ainsi, leur thermostabilité, par rapport à celle des anticorps artificiels, est souvent un peu moins prononcée ; d'après Landsteiner et Reich (1), le chauffage à 45° des hématies, sensibilisées par les agglutinines normales, a pour effet leur mise en liberté en quantité plus élevée que si l'on procède de la même façon pour les hématies sensibilisées par les agglutinines artificielles ; d'après Müller (2), l'avidité des anticorps artificiels pour l'anti-

(1) *Centralbl. f. Bakt.*, **39**, 1905.

(2) *Technik u. Methodik der Imm.* (KRAUS et LEVANTIT), **3**, p. 1.



gène est plus prononcée que celle des anticorps normaux ; enfin, nous avons déjà mentionné la constatation de Forssman, que les extraits d'organes des animaux du type « cobaye » sont doués de la propriété de fixer les hémolysines anti-mouton normales et dépourvus de toute affinité pour les hémolysines obtenues au moyen d'une immunisation active.

Les expériences dont la description suit nous ont permis de faire quelques constatations nouvelles au sujet de la différenciation des hémolysines normales des hémolysines artificielles. Notre raisonnement fut le suivant : puisque les hématies de mouton ont une affinité fixe vis-à-vis des anticorps artificiels et une affinité d'intensité variable et, parfois, nulle vis-à-vis des anticorps normaux, il faut admettre que « les récepteurs » pour ces deux groupes d'anticorps ne sont pas « identiques » et qu'on devrait pouvoir arriver à les saturer à volonté, soit avec les anticorps normaux, soit avec les anticorps artificiels. Nous nous sommes donc proposé d'effectuer les deux séries d'expériences suivantes : 1° saturer les hématies du mouton d'abord avec les hémolysines artificielles et, après centrifugation et lavage, les mettre de nouveau en contact avec les hémolysines artificielles d'un côté et les hémolysines normales ou les hétéro-hémolysines (que nous considérons comme anticorps normaux) d'un autre côté ; 2° saturer les hématies d'abord avec les hémolysines normales ou hétérologues et voir si elles sont encore capables de fixer les hémolysines artificielles. Ces deux expériences avaient été déjà tentées par Forssman, mais les conclusions auxquelles cet auteur est arrivé sont opposées aux nôtres et s'expliquent par la cause d'erreur suivante : F. a choisi pour ses expériences un sérum hétérologue de lapin immunisé avec l'extrait du rein de cobaye et un sérum homologue, également du lapin, immunisé avec les hématies de mouton ; or le sérum d'un lapin anti-mouton contient, à côté des hémolysines artificielles, des hémolysines normales (voir plus loin) ; la saturation avec les premières s'accompagnera donc toujours de la fixation d'une quantité appréciable des anticorps normaux, ce qui faussera certainement les résultats d'expériences.

Pour obvier à cet inconvénient, nous nous sommes adressé au sérum anti-mouton du cheval qui normalement, dans la



majorité des cas, ne contient pas d'hémolysines normales.

Au cours de ces expériences, nous avons été frappé par le même fait que Forssman, et notamment, que les hématies de mouton jouissent d'un pouvoir d'absorption très élevé pour les hétérolysines, mais ici aussi nos chiffres ne correspondent pas à ceux de Forssman, toujours pour la même raison que cet auteur s'était servi pour ses expériences d'un mélange d'hémolysines normales et d'hémolysines artificielles. Voici, tout d'abord, quelques expériences sur l'avidité des globules rouges de mouton vis-à-vis des hémolysines normales, hétérolysines de Forssman et hémolysines artificielles homologues.

### EXPÉRIENCE I.

On mélange dans 4 petits tubes à essai 1 cent. cube d'hématies de mouton lavées avec des doses croissantes du sérum de cheval anti-mouton.

Premier mélange : 1 cent. cube d'hématies + 1 cent. cube sérum de cheval.

Deuxième mélange : 1 cent. cube d'hématies + 0 c. c. 5 sérum de cheval.

Troisième mélange : 1 cent. cube d'hématies + 0 c. c. 1 sérum de cheval.

Quatrième mélange : 1 cent. cube d'hématies + 0 c. c. 02 sérum de cheval.

Après vingt-quatre heures de contact à la glacière, on centrifuge les mélanges, on décante les sérums et on détermine leur pouvoir hémolytique ainsi que celui du sérum de cheval anti-mouton d'avant l'absorption.

SÉRUM de cheval	AVANT l'adsorption	SÉRUM du premier mélange	SÉRUM du deuxième mélange	SÉRUM du troisième mélange	SÉRUM du quatrième mélange
0,1 . . . . .	C	C	C	0	0
0,1 1/5 . . .	C	C	C	0	0
0,1 1/10 . . .	C	C	C	0	0
0,1 1/20 . . .	C	C	C	0	0
0,1 1/40 . . .	C	C	0	0	0
0,1 1/80 . . .	C	C	0	0	0
0,1 1/160 . . .	C	0	0	0	0
0,1 1/320 . . .	C (p. c.)	0	0	0	0
0,1 1/640 . . .	0.	0	0	0	0



Cette expérience montre que 1 cent. cube d'hématies est capable d'absorber du sérum de cheval anti-mouton, en excès, 1.500 à 2.000 unités hémolytiques (1), *donc 0 c. c. 1 d'émulsion globulaire à 5 p. 100 fixe environ 8 à 10 doses hémolytiques.*

## EXPÉRIENCE II.

On prépare les mélanges suivants :

1° 1 cent. cube d'hématies de mouton + 1 cent. cube du sérum Forssman.

2° 0 c. c. 5 d'hématies de mouton + 1 cent. cube du sérum Forssman.

3° 0 c. c. 1 d'hématies de mouton + 1 cent. cube du sérum Forssman.

4° 0 c. c. 01 d'hématies de mouton + 1 cent. cube du sérum Forssman.

*Hémolyse, après vingt-quatre heures de séjour à la glacière et centrifugation consécutive.*

SÉRUM Forssman	AVANT l'adsorption	SÉRUM du premier mélange	SÉRUM du deuxième mélange	SÉRUM du troisième mélange	SÉRUM du quatrième mélange
0,1. . . . .	C	0	0	0	C
0,1 1/5. . .	C	0	0	0	C
0,1 1/10 . .	C	0	0	0	C
0,1 1/20 . .	C	0	0	0	C
0,1 1/40 . .	C	0	0	0	C
0,1 1/80 . .	C	0	0	0	C
0,1 1/160 . .	C	0	0	0	p. c.
0,1 1/320 . .	C	0	0	0	tr.
0,1 1/640 . .	p. c.	0	0	0	0

Cette expérience montre que 0,01 d'hématies a absorbé du sérum hétérologue de Forssman, environ 4.800 unités hémolytiques, *donc 0,1 d'émulsion globulaire à 5 p. 100 fixe, environ, 2.400 unités hémolytiques, c'est-à-dire plus de 200 fois plus que ce que nous avons constaté pour le sérum artificiel homologue.* (Les chiffres obtenus par Forssman ont montré que les anticorps hétérologues ne s'absorbaient qu'en quantité double de celle des anticorps homologues.)

(1) Nous comprenons par « unité hémolytique » la quantité d'hémolysine nécessaire pour hémolyser 0 c. c. 1 d'émulsion globulaire à 5 p. 100.



## EXPÉRIENCE III.

On prépare les mélanges suivants :

1° 0 c. c. 1 de globules de mouton + 1 cent. cube de sérum de lapin normal.

2° 0 c. c. 1 au 1/10 de globules de mouton + 1 cent. cube de sérum de lapin normal.

3° 0 c. c. 1 au 1/100 de globules de mouton + 1 cent. cube de sérum de lapin normal.

4° 0 c. c. 1 au 1/1.000 de globules de mouton + 1 cent. cube de sérum de lapin normal.

5° 0 c. c. 1 au 1/10.000 de globules de mouton + 1 cent. cube de sérum de lapin normal.

*Hémolyse, après vingt-quatre heures de séjour à la glacière et centrifugation consécutive.*

SÉRUM de lapin normal	AVANT l'adsorption	PREMIER mélange	DEUXIÈME mélange	TROISIÈME mélange	QUATRIÈME mélange	CINQUIÈME mélange
0,1 . . .	C	0	0	0	tr.	C
0,1 1/2 .	C	0	0	0	0	part.
0,1 1/4 .	C	0	0	0	0	tr.
0,1 1/8 .	part.	0	0	0	0	0
0,1 1/16 .	0	0	0	0	0	0

Cette expérience montre que 0 c. c. 1 d'hématies au 1/10.000 fixe 4 à 6 unités hémolytiques du sérum de lapin normal, donc 0 c. c. 1 d'émulsion globulaire à 5 p. 100 fixera 2.000 à 3.000 unités, chiffre sensiblement comparable à celui obtenu pour le sérum hétérologue de Forssman.

## EXPÉRIENCE IV.

On prépare les mélanges suivants :

1° 0 c. c. 1 de globules de mouton + 1 cent. cube de sérum humain normal.

2° 0 c. c. 1 1/10 de globules de mouton + 1 cent. cube de sérum humain normal.

3° 0 c. c. 1 1/100 de globules de mouton + 1 cent. cube de sérum humain normal



4° 0 c. c. 1 1/1.000 de globules de mouton + 1 cent. cube de sérum humain normal.

5° 0 c. c. 1 1/10.000 de globules de mouton + 1 cent. cube de sérum humain normal.

### Hémolyse.

SÉRUM humain normal	AVANT l'adsorption	PREMIER mélange	DEUXIÈME mélange	TROISIÈME mélange	QUATRIÈME mélange	CINQUIÈME mélange
0,1 . . .	C	0	0	0	C	C
0,1 1/5 .	C	0	0	0	part.	C
0,1 1/10 .	C	0	0	0	0	C
0,1 1/20 .	C	0	0	0	0	part.
0,1 1/40 .	tr.	0	0	0	0	0

Cette expérience montre que 0 c. c. 1 d'hématies au 1/1.000 a fixé 20 à 30 unités hémolytiques du sérum humain normal, donc 0 c. c. 1 d'émulsion globulaire à 5 p. 100 fixera 1.000 à 1.500 unités hémolytiques, chiffre assez rapproché de celui obtenu pour le sérum normal du lapin et le sérum hétérologue de Forssman.

Il résulte de ces quatre expériences que :

1° *L'affinité (l'avidité) des hémolysines hétérologues de Forssman pour les hématies de mouton est sensiblement égale à celle des hémolysines normales, nouvelle preuve de l'identité de ces deux substances ;*

2° *Les hématies de mouton sont capables de fixer environ 200 fois plus d'anticorps normaux que d'anticorps artificiels.*

Muni de ces renseignements, nous pouvons à présent aborder le problème de la différenciation des hémolysines normales des hémolysines artificielles.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — *Objet : Saturation des hématies de mouton avec le sérum anti-mouton de cheval et fixation ultérieure des hémolysines de Forssman et des hémolysines normales de l'homme.*

5 cent. cubes de sang de mouton sont lavés et mis en contact avec 5 cent. cubes de sérum de cheval anti-mouton; après vingt-quatre heures de séjour à la glacière, centrifugation et



lavage à l'eau physiologique, on met en contact : 1 cent. cube d'hématies sensibilisées avec 1 cent. cube d'une nouvelle portion du même sérum de cheval, un autre cent. cube — avec 1 cent. cube du sérum de Forssman, un troisième cent. cube — avec 1 cent. cube de sérum humain normal; comme contrôle, on met en contact : 1 cent. cube d'hématies non sensibilisées avec 1 cent. cube de sérum de Forssman et 1 cent. cube d'hématies non sensibilisées avec 1 cent. cube de sérum humain normal.

*Hémolyse.*

QUANTITÉ de sérum	SÉRUM de cheval avant l'adsorption	SÉRUM de cheval après la première adsorption	SÉRUM de cheval après la deuxième adsorption	SÉRUM de Forssmann avant adsorption
0,1 . . . . .	C	C	C	C
0,1 1/10. . .	C	C	C	C
0,1 1/20. . .	C	C	C	C
0,1 1/40. . .	C	C	C	C
0,1 1/80. . .	C	p. c.	C	C
0,1 1/160 . .	C	0	C	C
0,1 1/320 . .	p. c.	0	p. c.	C
0,1 1/640 . .	0	0	0	tr.
0,1 1/1.280 .	0	0	0	0

QUANTITÉ de sérum	SÉRUM de Forssman après adsorption par hématies non sensibilisées	SÉRUM de Forssman après adsorption par hématies sensibilisées	SÉRUM humain normal avant l'adsorption	SÉRUM humain normal après adsorption par hématies non sensibilisées	SÉRUM humain normal après adsorption par hématies sensibilisées
0,1 . . . . .	0	0	C	0	0
0,1 1/10. . .	0	0	C	0	0
0,1 1/20. . .	0	0	tr.	0	0
0,1 1/40. . .	0	0	0	0	0
0,1 1/80. . .	0	0	0	0	0
0,1 1/160 . .	0	0	0	0	0
0,1 1/320 . .	0	0	0	0	0
0,1 1/640 . .	0	0	0	0	0
0,1 1/1.280 .	0	0	0	0	0

*Cette expérience montre que les globules de mouton saturés avec les hémolysines artificielles homologues, ayant donc perdu*



*la faculté de fixer de nouvelles quantités de ces hémolysines, sont encore capables de fixer autant d'hémolysines normales et d'hémolysines hétérologues de Forssman que les hématies qui n'avaient subi aucune sensibilisation préalable.*

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Objet : *Sensibilisation préalable des hématies avec les anticorps de Forssman et fixation ultérieure des hémolysines homologues du sérum de cheval anti-mouton.*

0 c. c. 1 de globules de mouton est mis en contact pendant vingt-quatre heures à la glacière avec 10 cent. cubes de sérum de Forssman; on centrifuge et on lave les hématies qu'on divise ensuite en deux parties : la moitié est mise en contact avec une nouvelle portion du sérum de Forssman, et l'autre moitié avec 1 cent. cube de sérum de cheval anti-mouton dilué au 1/10.

### *Hémolyse.*

SÉRUM de Forssmann	AVANT l'adsorption	APRÈS la première adsorption	APRÈS la deuxième adsorption
0,1. . . . .	C	C	C
0,1 1/10 . . . . .	C	C	C
0,1 1/20 . . . . .	C	C	C
0,1 1/40 . . . . .	C	C	C
0,1 1/80 . . . . .	C	C	C
0,1 1/160 . . . . .	C	p. c.	C
0,1 1/320 . . . . .	C	tr.	C
0,1 1/640 . . . . .	part. (p. c.)	0	p. c.
0,1 1/1.280 . . . . .	0	0	0

SÉRUM de cheval anti-mouton 1/10	AVANT l'adsorption	APRÈS l'adsorption par les hématies sensibilisées	APRÈS l'adsorption par les hématies non sensibilisées
0,1. . . . .	C	C	C
0,1 1, 2. . . . .	C	C	C
0,1 1/4. . . . .	C	C	C
0,1 1, 8. . . . .	C	tr.	part.
0,1 1/16 . . . . .	C	0	tr.
0,1 1/32 . . . . .	p. c.	0	0
0,1 1/64 . . . . .	0	0	0



Cette expérience montre que les globules de mouton sensibilisés avec les hémolysines hétérologues de Forssman sont encore capables de fixer autant de sensibilisatrice anti-mouton de cheval que les globules qui n'avaient subi aucune sensibilisation préalable. Ajoutons que les globules sensibilisés avec l'hémolysine normale humaine se sont également montrés capables de fixer autant d'hémolysine artificielle que les globules non sensibilisés (1).

\*  
\* \*

Au cours de ces expériences sur la saturation, à volonté, des « récepteurs » pour les hémolysines normales et artificielles, nous nous sommes aperçu qu'en remplaçant le sérum de cheval anti-mouton par un sérum de lapin anti-mouton, les résultats ne sont jamais aussi nets et exempts de toute interprétation erronée, et nous avons pensé que ce phénomène ne pouvait être attribué qu'à la présence simultanée dans le sérum du lapin, des hémolysines normales et artificielles.

Les expériences, dont la description suit, ont pleinement confirmé notre hypothèse.

#### EXPÉRIENCE I.

5 cent. cubes de globules de mouton normal et 5 cent. cubes de globules du mouton X sont mis en contact avec 0 c. c. 5 de sérum de cheval anti-mouton d'un côté, et avec 0 c. c. 5 de sérum de lapin anti-mouton dilué au 1/4 de l'autre côté. Il est à noter que le titre du sérum de cheval était de 1 : 300 et le titre du sérum de lapin, dilué au 1/4, également de 1 : 300, et que le sérum de lapin, avant l'immunisation, hémolysait les globules de mouton à la dilution de 1 : 40.

(1) Ces recherches étaient terminées, lorsque nous avons reçu de M. Gutfeld le tirage à part de son travail que nous ignorions et qui a paru dans *Zeitschrift f. Imm.*, t. XXXIV, fasc. 6, p. 524; dans ce travail, cet auteur, sans s'occuper de la nature des hétérohémolysines de Forssman, relate, conformément à nos expériences, que les hématies sensibilisées avec l'anticorps artificiel homologue sont encore capables de fixer l'hétéro-hémolysine de Forssman; par contre, l'expérience croisée (sensibilisation des hématies avec l'anticorps hétérologue et fixation consécutive des anticorps homologues) a abouti à un résultat négatif.



Après vingt-quatre heures de séjour à la glacière et centrifugation, on essaie le pouvoir hémolytique des sérums décantés vis-à-vis des H. N. et H. X.

*Hémolyse.*

DILUTION des sérums	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.	H. N.	H. X.
0,1 . . . . .	0	0	part.	0	0	0	C	0
0,1 1/5 . . . .	0	0	0	0	0	0	C	0
0,1 1/10 . . . .	0	0	0	0	0	0	p. c.	0
0,1 1/20 . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1 1/40 . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1 1/80 . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1 1/160 . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0
0,1 1/320 . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sérum de cheval adsorbé par les H. N.		Sérum de cheval adsorbé par les H. X.		Sérum de lapin adsorbé par les H. N.		Sérum de lapin adsorbé par les H. X.	

Cette expérience montre que, tandis que les globules du mouton normal, ajoutés en excès, ont absorbé, aussi bien du sérum de cheval anti-mouton que du sérum de lapin anti-mouton, toutes les hémolysines présentes dans ces sérums, les globules du mouton X, ajoutés aux sérums en même quantité, ont absorbé du sérum de cheval presque tous les anticorps, tandis que le sérum du lapin, dans les mêmes conditions, a conservé son pouvoir hémolytique vis-à-vis des hématies normales identique à celui d'avant l'immunisation (entre 1/20-1/40).

EXPÉRIENCE II.

Les globules d'un mouton normal sont soumis tout d'abord à la saturation par les sensibilisatrices contenues, soit dans le sérum anti-mouton de cheval, soit dans celui de lapin, et mis ensuite en contact pendant vingt-quatre heures avec le sérum inverse.



*Hémolyse.*

DILUTIONS des sérums	SÉRUM de cheval anti-mouton avant l'adsorption	SÉRUM de lapin anti-mouton avant l'adsorption	SÉRUM de cheval adsorbé par les globules sensibilisées avec le sérum de lapin	SÉRUM de lapin adsorbé par les globules sensibilisées avec le sérum de cheval
0,1 . . . . .	C	C	C	C
0,1 1/10. . .	C	C	C	C
0,1 1/20. . .	C	C	C	C
0,1 1/40. . .	C	C	C	C
0,1 1/80. . .	C	C	C	p. c.
0,1 1/160 . .	C	C	C	0
0,1 1/320 . .	C	0	part.	0
0,1 1/640 . .	0	0	0	0

Il résulte de cette expérience que les globules de mouton saturés avec la sensibilisatrice contenue dans le sérum de lapin, ne peuvent plus fixer de nouvelles portions d'anticorps de sérum de cheval, tandis que les globules, saturés avec la sensibilisatrice du cheval, fixent encore des quantités appréciables d'anticorps du sérum de lapin et qui correspondent, à peu près, à la quantité d'anticorps normaux du même sérum d'avant l'immunisation. On arrive ainsi à débarrasser le sérum de lapin de ses hémolysines normales, en ne lui laissant que celles qui avaient été obtenues au moyen de l'immunisation active. Une autre expérience donc s'imposait et, notamment, de saturer les hématies avec les hémolysines normales d'abord et les mettre ensuite en contact avec le sérum de lapin anti-mouton, ayant pour but de fixer tous les anticorps artificiels et laisser intacts les anticorps normaux. Or, le calcul suivant montre à quelles difficultés d'ordre technique on se heurte, si l'on veut mener à bien pareille expérience : pour enlever à un sérum de lapin dont le titre hémolytique est de 1 : 1.000, tous ses anticorps artificiels, il faut employer, pour 1 cent. cube d'un tel sérum, 5 à 10 cent. cubes environ de globules de mouton ; or, nous avons vu que l'avidité des globules rouges pour les hémolysines normales est considérable, et que, pour saturer 5 à 10 cent. cubes de globules de mouton avec un sérum de Forssman dont



le titre est, par exemple, de 1 : 1.000, il faut avoir à sa disposition 2.000.000 à 4.000.000 environ d'unités hémolytiques, c'est-à-dire 200 à 400 cent. cubes environ de sérum de Forssman.

Vu cette difficulté d'ordre technique, et n'ayant plus à notre disposition des quantités aussi élevées de sérum hétérologue, nous avons remis à plus tard l'exécution de cette expérience ; toutefois, les expériences précédentes semblent prouver que les hémolysines normales qui se trouvent dans un sérum de lapin ne disparaissent pas au cours d'une immunisation active, et que les hémolysines artificielles nouvellement formées circulent à côté des hémolysines normales.

Si cette conception est vraie, on comprend mieux les divergences entre nos expériences et celles de Forssman, et, à sa lumière, les chiffres rapportés par Müller, Landsteiner et Reich, Eisenberg et Volk (1), etc..., au sujet de l'avidité et de l'absorption des anticorps normaux et des anticorps artificiels, devraient être modifiés. En effet, Müller, en comparant l'avidité des anticorps normaux aux anticorps artificiels, a constaté que l'avidité de ces derniers s'intensifiait au fur et à mesure des inoculations successives de l'antigène ; or, il est plus simple d'admettre que l'avidité des anticorps normaux étant différente de celle des anticorps artificiels (les mêmes auteurs), leur action sur l'antigène arrive à être de plus en plus masquée par les anticorps artificiels, dont le nombre augmente progressivement au cours de l'immunisation active.

Il est évident, en général, que lorsqu'on compare les anticorps normaux aux anticorps artificiels, il ne faut pas se servir, pour ces derniers, des animaux possédant des anticorps à l'état normal.

Nos recherches sur l'avidité des hémolysines normales et des hémolysines artificielles ne sont pas encore terminées, mais il résulte de nos chiffres que les premières se fixent sur les hématies en nombre beaucoup plus considérable que les dernières, ou, pour parler le langage d'Ehrlich, que les hématies possèdent beaucoup plus de « récepteurs » pour les anticorps normaux que de « récepteurs » pour les anticorps artificiels.

(1) *Zeitschr. f. Hygiene*, 34, 1902.



### Origine philogénétique du mouton X.

Le mouton X diffère d'une centaine de ses congénères que nous avons examinés par l'absence presque totale dans son sang des affinités pour les hémolysines normales de l'homme et des animaux de type « lapin » et l'affinité plus accentuée pour les hémolysines des animaux du type « cobaye ». Nous avons pensé que cette propriété extraordinaire du sang du mouton X pouvait être considérée comme un caractère « latent » ou « récessif » dans le sens mendélien, d'autant plus que les belles recherches de Dungern et Hirsfeld avaient démontré pour les groupes sanguins chez l'homme qu'ils s'héritaient d'après la grande loi biologique de Mendel. Pour vérifier cette hypothèse, le plus simple aurait été d'examiner au point de vue sanguin les ascendants et les descendants directs du mouton en question; or, nous avons dû renoncer à cette voie d'investigation, car l'origine de ce mouton acheté aux abattoirs de Paris était inconnue et, de plus, ce mouton étant châtré, on ne pouvait pas songer à étudier ses descendants.

Nous avons donc choisi une autre voie, et, notamment, nous avons conçu l'espoir de trouver parmi les moutons de diverses races pures de France et de ses colonies, ainsi que de quelques races étrangères, des ancêtres du mouton X ayant les mêmes propriétés sanguines que lui. Pour mener à bien ces recherches, nous nous sommes adressé à M. Dechambre, professeur de zootechnie à l'Ecole vétérinaire d'Alfort, en le priant de nous aider dans la poursuite de notre projet. Qu'il nous soit permis d'exprimer ici à M. le professeur Dechambre notre vive reconnaissance pour l'amabilité avec laquelle il nous a toujours reçu, les précieux conseils qu'il nous a prodigués avec sa haute compétence et toutes les facilités qu'il nous a fournies pendant ce travail.

Nous avons donc examiné les races ovines suivantes, que M. le professeur Dechambre a mises à notre disposition, aussi bien à l'Ecole d'Alfort qu'à l'Ecole de Grignon, au Centre zootechnique de Vaux-de-Cernay, et à la Bergerie nationale de Rambouillet.



- 1) *Rambouillet* (1). — Race ancienne conservée en parfaite pureté depuis 1786, productrice de laine pure.
- 2) *Mérinos de l'Ile de France*. — Race dérivée de Rambouillet dans le courant du xix<sup>e</sup> siècle; sélectionnée pour la production de laine fine et de viande.
- 3) *Charmoise*. — Race d'origine métisse obtenue vers 1840 par des croisements berrichon-solognot-New-Kent (cette dernière race importée d'Angleterre). La charmoise est un mouton à viande fine et précoce.
- 4) *Southdown*. — Race pure d'origine anglaise, importée depuis longtemps en France; spécialisée pour la production de la viande.
- 5) *Solognote pure*. — Vieille race française, rustique et fine à la fois, caractérisée par sa tête et ses membres colorés en roux.
- 6) *Dishley pur*. — Race anglaise d'origine ancienne, tête et membres blancs, toison longue, très précoce et spécialisée pour l'engraissement.
- 7) *Dishley mérinos*. — Race obtenue à partir de 1840 par le croisement du Mérinos de Rambouillet et de la race anglaise Dishley; race mixte, viande et laine très précoces.
- 8) *Southdown Solognot*. — Métis obtenu par un bélier Southdown pur et une brebis solognote.
- 9) *Oxford*. — Race anglaise à tête et membres brun noirâtre, bonne productrice de viande.
- 10) *Bizet*. — Originaire du Massif central et habitant le Cantal et la Haute Loire; race homogène, rustique, très appréciée pour sa viande.
- 11) *Lincoln*. — Race anglaise très voisine du Dishley; importée en Argentine pour la production de la viande; c'est d'Argentine que proviennent les deux animaux ayant fourni le sang.
- 12) *Berrichon*. — Très ancienne race française habitant le Cher et l'Indre; elle a été assez fréquemment croisée par le Dishley et le Dishley-mérinos, en vue d'améliorer son rendement en viande.
- 13) *Macina*. — Race à laine habitant la boucle du Niger, très primitive; elle porte une toison longue, grossière, pesant environ 2 kilogrammes, de provenance directe.
- 14) *Mouton Maure*. — Grand mouton busqué appartenant au type classique de l'A. C. F., du Congo, du Soudan, etc.; entièrement noir; couvert de poil et non de laine.
- 15) *Bélier du Sénégal*. — Même type que le précédent, avec caractères moins accentués; pelage fauve; couvert de poil.
- 16) *Bélier Peuhl*. — Même type; pelage grisâtre, poil long et fourni au poitrail; type primitif très accentué.

Ajoutons que un à quatre individus de chaque race ont été examinés, que le mouton X avait été reconnu par le professeur Dechambre comme ayant beaucoup de ressemblance avec le mouton berrichon, et que plusieurs races ovines auraient dû être étudiées, mais diverses circonstances ne nous ont pas permis cette étude; les quatre races suivantes sont celles sur les-

(1) Les détails sur chaque race sont textuellement copiés d'après une notice obligeamment mise à notre disposition par M. le professeur Dechambre.



quelles nous nous proposons dans la suite de poursuivre nos investigations : race des Causses de Gascogne, race des Pyrénées, Mérinos de la Crau et mouton africain du Nord.

Or, le résultat de cette série de recherches fut constamment négatif, c'est-à-dire que le sang d'aucun des moutons examinés ne s'est montré doué de propriétés décrites chez le mouton X; chez aucun d'entre eux nous n'avons trouvé non plus de groupe sanguin particulier ou des iso-agglutinines pour les individus des races ovines même très éloignées au point de vue morphologique; toutefois, la sensibilité des hématies vis-à-vis des hémolysines normales s'est montrée inégale pour divers individus, tandis que leur sensibilité vis-à-vis des hémolysines artificielles fut toujours pareille (voir chapitre II).

En présence de cet échec, l'origine héréditaire des propriétés particulières du sang du mouton X nous paraît peu probable, quoique non impossible, et nous croyons être plus près de la vérité en considérant les propriétés sanguines du mouton X comme une mutation brusque dans le sens de Vries; en effet, puisqu'on observe journellement l'apparition des modifications morphologiques subites et grossières aussi bien chez les animaux que chez les végétaux, pourquoi ne pas admettre que des modifications d'un caractère plus subtil ne puissent également se produire dans la structure biochimique profonde des cellules?

### Conclusions.

1° Les globules rouges des divers individus de la race ovine possèdent toujours la même affinité vis-à-vis des anticorps artificiels homologues, ou, pour parler le langage d'Ehrlich, le nombre de « récepteurs » pour ces anticorps est toujours le même; par contre, le nombre de « récepteurs » pour les anticorps normaux varie d'un individu à l'autre et peut aller jusqu'à l'absence totale de ces « récepteurs » (notre mouton X).

2° Au point de vue de l'affinité des hémolysines vis-à-vis des globules rouges, les hétéro-hémolysines de Forssman se comportent exactement comme les hémolysines normales.

3° Il est facile de saturer à volonté les « récepteurs » pour



l'une ou l'autre catégorie d'anticorps, avec les hémolysines normales ou les hémolysines artificielles, des « récepteurs » distincts paraissant correspondre à chacun de deux groupes d'anticorps.

4° Chez les animaux vaccinés, les hémolysines normales préformées paraissent circuler à côté des hémolysines artificielles nouvellement formées, et les expériences d'absorption permettent la séparation de ces deux groupes d'anticorps.

5° Il n'existe aucune relation entre le pouvoir hémolytique plus ou moins élevé des sérums humains vis-à-vis des hématies du mouton et la présence des diverses combinaisons sanguines (A, B, A + B, ni A ni B) dans le sang humain.

6° La présence des groupes sanguins chez le mouton n'a pu être confirmée.

7° Une étude sérologique d'un mouton exceptionnel est exposée, qui a montré que les hématies de cet animal, à l'encontre de celles des autres individus de l'espèce ovine, sont dépourvues d'affinité vis-à-vis des anticorps normaux des animaux du type « lapin » (lapin, bœuf, rat et homme) et des hétéro-hémolysines de Forssman et possèdent, au contraire, une affinité plus prononcée vis-à-vis des anticorps normaux des animaux du type « cobaye » (cobaye, cheval, chien) et des hétéro-hémolysines obtenues chez le lapin par l'injection des extraits du rein des animaux du type « lapin » et notamment du bœuf et du rat.

8° L'apparition de ces propriétés exceptionnelles dans le sang du mouton X ne semble pas devoir être attribuée à l'héritage dans le sens mendélien, mais à une mutation brusque dans le sens de de Vries.

9° L'hypothèse est envisagée que les effets bienfaisants d'une protéinothérapie non spécifique sont dus à la sécrétion intensifiée des anticorps normaux, par analogie avec les hétéro-hémolysines de Forssman, qui se comportent comme les anticorps normaux, et dont la formation est déterminée par l'injection des antigènes hétérologues.



## SUR LA RÉGULARITÉ DE LA FERMENTATION LACTIQUE EN PRÉSENCE DE SUBLIMÉ

par AUGUSTE LUMIÈRE.

M. le professeur Richet et ses élèves n'ont pas réussi à obtenir la constance de la fermentation pour tous les tubes d'un même essai, dans lesquels ils avaient réparti des volumes égaux de même bouillon ensemencé avec le bacille lactique, bien que tous ces tubes aient été placés dans des conditions expérimentales qu'ils ont cru aussi identiques que possible.

Ils ont constaté, en outre, que, quand la fermentation s'effectue dans un milieu renfermant certains antiseptiques, tels que le sublimé, les irrégularités de la prolifération microbienne s'accroissent considérablement et, ne pouvant découvrir la cause de ces variations, ils en ont accusé le microbe.

Nous avons démontré, dans des recherches antérieures (1), qu'il suffit de rendre les manipulations assez précises pour que la fermentation devienne parfaitement régulière et uniforme dans toutes les cultures d'une même expérience.

Malgré cette démonstration, M. le professeur Richet et ses collaborateurs ont cru devoir maintenir leurs interprétations antérieures à la suite de nouvelles recherches (2) dans lesquelles ils ont considérablement réduit le nombre de germes d'ensemencement, sans tenir compte de ce fait signalé déjà par nous dans une réponse provisoire aux arguments de M. Richet, qu'il n'est pas permis de diminuer indéfiniment la valeur des facteurs d'une expérience sans améliorer parallèlement les méthodes de mesure de ces éléments (3).

(1) Auguste LUMIÈRE, Contribution à l'étude de la fermentation lactique et des propriétés des microbes. *Ces Annales*, novembre 1923, p. 967-987 et 997-999.

Auguste LUMIÈRE, Sur la variabilité de la fermentation lactique. *Ces Annales*, avril 1924, p. 344-357.

(2) Ch. RICHET et H. CARDOT, La fermentation lactique et les écarts de la moyenne. *Ces Annales*, 1924, p. 848-857.

(3) Auguste LUMIÈRE, A propos de la régularité de la fermentation lactique. *Ces Annales*, 1924, p. 842-850.



MM. Richet et Cardot sont partis, pour leurs dernières études, d'une souche de semence âgée seulement de vingt heures, c'est-à-dire relativement pauvre, la pullulation n'ayant pas eu le temps de s'effectuer avec une grande intensité. Cette culture est filtrée sur dix épaisseurs de papier à filtre ordinaire et centrifugée modérément pendant vingt minutes.

Nous reconnaissons que ces dispositions rendent la masse culturale suffisamment homogène pour que les prélèvements de volumes égaux que l'on pourrait y faire renferment un nombre de germes sensiblement égal.

Ces expérimentateurs préparent, d'autre part, un milieu stérile auquel ils ajoutent une proportion de sublimé telle que la fermentation soit réduite de 50 p. 100 au bout de quarante-huit heures dans le cas d'ensemencement abondant.

Dans ce bouillon également homogène, renfermé dans un ballon de 150 cent. cubes, ils introduisent 1 cent. cube de culture mère à différentes dilutions; la masse, agitée avec modération, est ensuite répartie dans des tubes à la pipette, par 5 cent. cubes.

Rappelons que, dans le cas de l'ensemencement avec une culture diluée au 1/30.000, les doses d'acides trouvés dans les différents tubes d'une même série sont représentées par les nombres suivants, considérés par les bactériologistes précités comme une éclatante confirmation de leurs résultats antérieurs :

0.0	0.0	4.8	8.2
0.0	0.0	5.4	8.2
0.0	0.0	5.6	8.4
0.0	0.2	6.0	8.8
0.0	0.6	6.0	12.4
0.0	2.6	6.8	17.0
0.0	4.2		

Nous avons répété ces essais dans des conditions aussi voisines que possible, mais non absolument identiques, parce que nous avons mis en œuvre une race de bacille différente de celle qui a servi aux investigations de M. Richet; de plus, nous avons adopté la teneur en sublimé de 0,002 par litre qui, au bout de quarante-huit heures et pour notre souche, diminue de 50 p. 100 la fermentation, avec de larges ensemencements;



cette concentration peut différer de celle employée par MM. Richet et Cardot et qu'ils n'indiquent pas.

Quoi qu'il en soit et malgré les petites divergences probables, nos observations corroborent d'une façon complète celles de nos contradicteurs; la fermentation a été nulle dans certains tubes et assez abondante dans d'autres.

Nous n'avons pas eu de peine à découvrir la cause de ces variations.

Quand on introduit une culture bien homogène de bacilles



FIG. 1.

lactiques dans un bouillon au sublimé, lui-même également homogène, le sel mercurique réagit sur certaines protéines de la souche d'ensemencement, il se produit des coagulations de matières albuminoïdes qui emprisonnent une partie des microbes, de sorte que si les composants du mélange sont parfaitement homogènes, le mélange lui-même ne l'est plus.

Il est très aisé de se rendre compte de l'existence et de la structure des précipitations albuminoïdiques irrégulières qui se forment ainsi; il suffit, pour cela, de centrifuger la masse,



d'étaler sur lame le culot de centrifugation et de l'examiner au microscope après coloration.

La figure 1 montre ce que l'on recueille ainsi. Il est bien certain que la distribution dans des tubes d'un liquide qui renferme de tels magmas ne pourra pas être uniforme, quant à la répartition des germes; il est non moins évident que l'irrégularité de la fermentation sera inévitable.

Que s'est-il passé exactement quand on a effectué le mélange?

Si la proportion de sublimé employé diminue de 50 p. 100 la fermentation avec un ensemencement abondant, lorsque la culture est diluée à 1/30.000, la concentration en poison restant la même, le poids relatif de toxique par rapport au nombre de germes devient 30.000 fois plus grand et il y a alors un excès considérable de  $\text{HgCl}_2$ .

Quand on introduit la culture dans le milieu toxique, les protéines de cette culture coagulables par le sublimé sont aussitôt précipitées: elles enferment des bacilles en plus ou moins grande abondance. Les microbes qui sont ainsi emprisonnés dans les amas floculés sont protégés contre l'action du chlorure mercurique en excès qui continue à exercer son effet stérilisant sur les germes isolés ayant échappé à l'enrobement par les protéines coagulées. Les bacilles dispersés dans le milieu sont donc tués, tandis que ceux qui sont inclus dans les amas protéiques peuvent conserver leur vitalité plus ou moins atténuée suivant le hasard des formations précipitées.

Dans la répartition en tubes d'un mélange aussi irrégulier, certaines cultures resteront stériles et d'autres végéteront plus ou moins abondamment.

Nous avons examiné comparativement un milieu sans sublimé additionné d'une même quantité de culture diluée et, après centrifugation, nous avons bien trouvé dans le culot des débris de toutes sortes, des poussières ou des impuretés provenant des récipients, des filtres de l'eau employée ou des matériaux constituant le bouillon, etc., mais le dépôt n'a rien de commun avec les floclats dus au sublimé.

On retrouve ces impuretés sur les préparations microscopiques faites avec le culot, mais la plupart des points de cette préparation se présentent sous l'aspect que montre la figure 2.

Si, en opérant suivant la technique de MM. Richet et



Cardot, nos dosages s'accordent dans leur ensemble avec ceux de ces auteurs, l'échelle des variations d'acidité dans les tubes qui végétent est moins étendue dans nos expériences que dans les leurs.

Le plus souvent, nos tubes sont stériles ou bien, lorsqu'ils ont végété, ils donnent des taux d'acidité peu différents. Il suffit d'ailleurs d'introduire la culture plus ou moins rapidement dans le bouillon, d'agiter le milieu pendant ou seulement après l'ensemencement, pour constater des différences

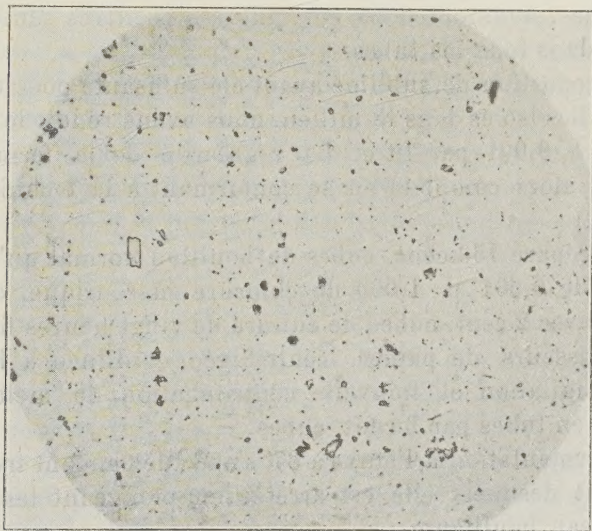


FIG. 2.

dans les résultats, ce que l'on pouvait prévoir *a priori* puisque les dimensions et la dispersion des amas peuvent varier suivant la façon dont le mélange est effectué.

Etant donné que nous connaissons les causes des irrégularités, il est facile d'y remédier.

Au lieu de répartir dans nos tubes une masse qui renferme en suspension des amas variables, nous n'aurons qu'à éliminer par centrifugation les floculats qui sont responsables des irrégularités, afin de ne pas introduire dans les tubes des éléments différents, mais bien le même milieu homogène.



Si nous utilisons la dose de sublimé qui réduit de moitié la fermentation obtenue par de largesensemencements, ce qui, avec la souche que nous avons employée, correspond à 0,002 de toxique par litre, nous constatons que le liquide homogène que l'on recueille au-dessus du culot après centrifugation modérée est stérile; réparti en tube, aucun d'eux ne donne une culture, ce liquide ne renferme que des cadavres microbiens.

Si nous reprenons le culot et si, après homogénéisation par vigoureuse agitation, nous distribuons le même bouillon dans des tubes, nous obtenons des cultures positives sensiblement égales dans tous les tubes.

La proportion de sublimé ayant été suffisante pour tuer tous les bacilles isolés dans le milieu, nous avons réduit le taux du poison à 0,001 par litre. La régularité de la fermentation devient alors complète en se conformant à la technique suivante :

On prépare 150 cent. cubes de bouillon normal qu'on additionne de 0,001 p. 1.000 de chlorure mercurique, on ensemence avec 2 cent. cubes de culture de vingt heures filtrée sur dix épaisseurs de papier, centrifugée et diluée à 1/30.000. Après agitation et nouvelle centrifugation, le mélange est réparti en tubes par 5 cent. cubes.

La fermentation à l'étuve à 37° s'effectue pendant trois jours, au bout desquels elle est arrêtée en plongeant les cultures dans l'eau bouillante.

Dans l'une de nos expériences, les dosages d'acidité ont donné les résultats suivants :

a) Acidification spontanée du bouillon témoin non ensemencé. . . . .	0,3
b) Sur 15 tubes de bouillon normal sans sublimé, ensemencés dans les conditions indiquées :	
10 ont présenté une acidité de. . . . .	5,3
3 ont présenté une acidité de. . . . .	5,4
c) Sur 20 tubes de bouillon au sublimé ensemencés dans les mêmes conditions :	
15 ont montré une acidité de. . . . .	2,2
3 ont montré une acidité de. . . . .	2,1



Dans un autre essai :

Sur 20 tubes, avec bouillon au sublimé à 0,001 p. 1.000 :

12 ont présenté une acidité de. . . . .	3,5
8 ont présenté une acidité de. . . . .	3,4

Comme on le voit, les irrégularités signalées par MM. Richet et Cardot ont complètement disparu lorsque nous avons pris la précaution d'éliminer les floculats et les différences observées par ces auteurs ne peuvent, selon nous, s'expliquer que par ce fait.

M. Richet a prétendu qu'il n'y avait pas lieu de tenir compte de nos expériences (1) et il a qualifié nos arguments antérieurs de médiocres.

Nous nous garderons de le suivre dans un procédé de discussion qui n'a rien de scientifique. Nous attendons avec confiance et sérénité le jugement des bactériologistes compétents et impartiaux.

#### CONCLUSIONS.

Les arguments apportés par MM. Richet et Cardot, dans leur dernier travail sur la fermentation lactique et les écarts moyens ne peuvent être retenus.

Les irrégularités observées par ces auteurs proviennent uniquement de la technique défectueuse employée par eux dans les manipulations.

Nos déductions antérieures demeurent entières : toutes les irrégularités de fermentation enregistrées par nos devanciers sont dues à l'insuffisance des techniques, le microbe n'y est absolument pour rien.

(1) Ch. RICHET, Les antiseptiques réguliers et irréguliers. *C. R.*, 177, 1923, p. 1262.

*Le Gérant : G. MASSON.*



